

Avaliação do valor agronómico e utilização de trevos anuais

Rafael Mexia de Almeida de Azevedo Gamas

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em

Engenharia Agronómica

Orientadores: Doutora Maria Odete Pereira Torres

Doutora Teresa Paula Carichas Carita Nunes

Júri:

Presidente: Doutora Cristina Maria Moniz Simões Oliveira, Professora Associada com Agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais: Doutora Maria Odete Pereira Torres, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa;

Doutor João Paulo Barbas Gonçalves Carneiro, Investigador Auxiliar do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária.

Lisboa, 2017

Agradecimentos

Quero agradecer em primeiro lugar aos meus pais, pelo incentivo, paciência e sacrifícios para que eu tivesse a oportunidade de completar a minha educação.

Às minhas orientadoras doutora Maria Odete Torres e doutora Teresa Carita por me terem acompanhado ao longo deste trabalho, sempre disponíveis para esclarecerem as minhas dúvidas e me apontarem na direção certa. Por todas as críticas, correções e sugestões que tornaram possível a conclusão desta dissertação.

Ao Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária Pólo de Elvas, que na pessoa do doutor Benvindo Maças, me recebeu de braços abertos e permitiu que acompanhasse o ensaio e usufruísse das instalações e material do INIAV.

A todos os técnicos e colaboradores do INIAV Pólo de Elvas que estiveram envolvidos em todas as fases do ensaio, desde a sementeira, cortes e tratamentos laboratoriais do material vegetal.

Resumo

A presente dissertação consistiu no acompanhamento de um ensaio para avaliação do valor agronómico e utilização (VAU) de trevos anuais e posterior determinação da sua composição química. O trabalho foi realizado no âmbito da parceria existente entre o Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV) - Pólo de Elvas, que faz parte da rede nacional de ensaios, e a Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV).

O objetivo deste trabalho foi a avaliação do VAU de novos génotipos de espécies de trevos candidatos ao Catálogo Nacional de Variedades (CNV). O ensaio contou com um total de vinte génotipos de entre sete espécies de diferentes trevos anuais. As espécies de *Trifolium* estudadas foram: *T. alexandrinum* (Bersim), *T. glanduliferum* (Trevo-glandulífero), *T. glomeratum* (Trevo-aglomerado), *T. hirtum* (Trevo-rosa), *T. michelianum* (Trevo-balansa), *T. resupinatum* (Trevo-da-Pérsia) e *T. vesiculosum* (Trevo-vesiculoso). Foram avaliados índices fenológicos e agronómicos, produções de matéria seca (MS) e alguns parâmetros da composição química de todos os génotipos em estudo.

Os resultados obtidos sugeriram que um génotipo de *T. hirtum* e um de *T. vesiculosum* apresentam elevada rusticidade, conseguindo superar as restantes espécies na produção de biomassa com condições ambientais adversas. Um dos génotipos de *T. resupinatum* possui uma boa qualidade nutricional. Os génotipos de *T. alexandrinum* exibiram bons crescimentos de outono-inverno e os de *T. michelianum* mostraram ter maior precocidade.

As condições climáticas durante o decurso do ensaio evoluíram de forma muito atípica, com um inverno relativamente seco, e uma primavera muito seca e quente. Estas condições afetaram de forma muito expressiva e evidente as produções de MS, tendo também provavelmente resultado em algum impacto na composição química das espécies.

Palavras-chave: Composição química; Leguminosas pratenses e forrageiras; Matéria seca; Trevos anuais; Valor nutricional.

Abstract

The present work consisted in the accompaniment of an experimental essay to evaluate agronomic value and utilization of annual clovers and subsequent determination of their chemical composition. The work was carried by a partnership between Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária and the Direção-Geral de Alimentação e Veterinária.

The aim of the work was to evaluate the VAU of new genotypes of clovers species candidates to the National Varieties Catalog. A total of twenty genotypes from seven species of different annual clovers were tested in the trial. The species of *Trifolium* studied were: *T. alexandrinum* (berseem clover), *T. glanduliferum* (gland clover), *T. glomeratum* (cluster clover), *T. hirtum* (rose-clover), *T. michelianum* (balansa clover), *T. resupinatum* (Persian clover) e *T. vesiculosum* (arrowleaf clover). Phenological and agronomic indexes, dry matter yields and nutritional value of all genotypes were evaluated.

The results suggested that one genotype of *T. hirtum* and one of *T. vesiculosum* present high adaptation to dry conditions and low rainfall level, being able to surpass the other species in biomass production with adverse environmental conditions. One of the genotypes of *T. resupinatum* demonstrated a good nutritional quality. The *T. alexandrinum* genotypes exhibited good autumn-winter growth and *T. michelianum* showed good precocity.

The climatic conditions during the course of the trial evolved very atypically, with a relatively dry winter, and a very dry and hot spring. These conditions affected dry matter production expressively, and probably also resulted in some impact on the chemical composition of the species.

Key-words: Annual clovers; Chemical composition; Dry matter; Nutritional value; Pasture and forage legumes.

Índice

Agradecimentos	ii
Resumo.....	iii
Abstract.....	iv
Lista de abreviaturas	vii
Índice de quadros.....	viii
Índice de figuras.....	x
1. Introdução	1
1.1. Ensaio Valor Agronómico e Utilização (VAU)	2
1.2. Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.	2
2. Enquadramento teórico	4
2.1. Descrição das espécies em estudo.....	9
2.1.1. <i>Trifolium alexandrinum</i> L. (Bersim).....	9
2.1.2. <i>Trifolium glanduliferum</i> Boiss. (Trevo-glandulífero)	10
2.1.3. <i>Trifolium glomeratum</i> L. (Trevo-aglomerado)	10
2.1.4. <i>Trifolium hirtum</i> All. (Trevo-rosa)	11
2.1.5. <i>Trifolium michelianum</i> Savi. (Trevo-balansa).....	11
2.1.6. <i>Trifolium resupinatum</i> L. (Trevo-da-Pérsia)	12
2.1.7. <i>Trifolium vesiculosum</i> Savi. (Trevo-vesiculososo)	13
2.2. Composição química das espécies em estudo.....	13
3. Material e métodos.....	17
3.1. Localização	17
3.2. Clima.....	17
3.3. Solo.....	18
3.4. Material vegetal.....	18
3.5. Instalação e condução do ensaio	20
3.5.1. Operações culturais (preparação do solo, adubação, sementeira e controlo de infestantes).....	20
3.5.2. Delineamento experimental.....	21
3.5.3. Observações – parâmetros fenológicos, morfológicos e agronómicos	22

3.6.	Métodos de caracterização laboratorial	24
3.7.	Análise estatística	24
4.	Resultados e discussão.....	25
4.1.	Índices fenológicos, morfológicos e agronômicos.....	25
4.1.1.	<i>Trifolium alexandrinum</i>	27
4.1.2.	<i>Trifolium glanduliferum</i> e <i>Trifolium glomeratum</i>	27
4.1.3.	<i>Trifolium hirtum</i>	28
4.1.4.	<i>Trifolium michelianum</i>	29
4.1.5.	<i>Trifolium resupinatum</i>	30
4.1.6.	<i>Trifolium vesiculosum</i>	30
4.2.	Produtividade de matéria seca	31
4.2.1.	<i>Trifolium alexandrinum</i>	31
4.2.2.	<i>Trifolium glanduliferum</i> e <i>Trifolium glomeratum</i>	32
4.2.3.	<i>Trifolium hirtum</i>	33
4.2.4.	<i>Trifolium michelianum</i>	34
4.2.5.	<i>Trifolium resupinatum</i>	34
4.2.6.	<i>Trifolium vesiculosum</i>	35
4.3.	Composição química.....	36
4.3.1.	<i>Trifolium alexandrinum</i>	36
4.3.2.	<i>Trifolium glanduliferum</i> e <i>Trifolium glomeratum</i>	36
4.3.3.	<i>Trifolium hirtum</i>	37
4.3.4.	<i>Trifolium michelianum</i>	38
4.3.5.	<i>Trifolium resupinatum</i>	39
4.3.6.	<i>Trifolium vesiculosum</i>	40
5.	Conclusões	41
6.	Referências bibliográficas	44

Lista de abreviaturas

ADF – Fibra em detergente ácido

ADL – Lenhina em detergente ácido

CNV – Catalogo Nacional de Variedades

DEF – Número de dias desde a emergência até que 5% das plantas iniciem a floração

DGAV – Direção Geral de Agricultura e Veterinária

DVS – Divisão de Variedades de Sementes

FB – Fibra bruta

INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.

MS – Matéria seca

MO – Matéria orgânica

NDF – Fibra em detergente neutro

PB – Proteína bruta

spp. – Espécies do género referido

^T – Genótipo testemunha

Talex – *Trifolium alexandrinum*

Tgla – *Trifolium glanduliferum*

Tglo – *Trifolium glomeratum*

Thir – *Trifolium hirtum*

Tmich – *Trifolium michelianum*

Tres – *Trifolium resupinatum*

Tves – *Trifolium vesiculosum*

VAU – Valor Agronómico e Utilização

Índice de quadros

Quadro 1 - Composição química das espécies em estudo	16
Quadro 2 - Temperatura média, média das temperaturas máximas, média das temperaturas mínimas e precipitação acumulada, em Elvas, no período de Setembro de 2016 a Maio de 2017.	17
Quadro 3 - Genótipos testados no ensaio experimental	19
Quadro 4 - Densidade de sementeira por espécie.....	20
Quadro 5 - Escala das observações qualitativas feitas nos talhões do ensaio	22
Quadro 6 - Registos das temperaturas média, máxima e mínima (°C) e precipitação (mm) durante o ensaio, agrupados em intervalos de dez dias	26
Quadro 7 - Observações do povoamento, vigor, sintomas de danos provocados por frio e geada, infestação e DEF nos talhões correspondentes aos genótipos de <i>T. alexandrinum</i> ..	27
Quadro 8 - Observações do povoamento, vigor, sintomas de danos provocados por frio e geada, infestação e DEF nos talhões correspondentes aos genótipos de <i>T. glanduliferum</i> e <i>T. glomeratum</i>	28
Quadro 9 - Observações do povoamento, vigor, sintomas de danos provocados por frio e geada, infestação e DEF nos talhões correspondentes aos genótipos de <i>T. hirtum</i>	28
Quadro 10 - Observações do povoamento, vigor, sintomas de danos provocados por frio e geada, infestação e DEF nos talhões correspondentes aos genótipos de <i>T. michelianum</i> ...	29
Quadro 11 - Observações do povoamento, vigor, sintomas de danos provocados por frio e geada, infestação e DEF nos talhões correspondentes aos genótipos de <i>T. resupinatum</i> ...	30
Quadro 12 - Observações do povoamento, vigor, sintomas de danos provocados por frio e geada, infestação e DEF nos talhões correspondentes aos genótipos de <i>T. vesiculosum</i> ...	30
Quadro 13 - Produção média de matéria seca (kg/ha) dos genótipos de <i>T. alexandrinum</i> e das infestantes nos respetivos talhões	32
Quadro 14 - Produção média de matéria seca (kg/ha) dos genótipos de <i>T. glanduliferum</i> , <i>T. glomeratum</i> e das infestantes nos respetivos talhões	32
Quadro 15 - Produção média de matéria seca (kg/ha) dos genótipos de <i>T. hirtum</i> e das infestantes nos respetivos talhões.....	33
Quadro 16 - Produção média de matéria seca (kg/ha) dos genótipos de <i>T. michelianum</i> e das infestantes nos respetivos talhões	34
Quadro 17 - Produção média de matéria seca (kg/ha) dos genótipos de <i>T. resupinatum</i> e das infestantes nos respetivos talhões	34
Quadro 18 - Produção média de matéria seca (kg/ha) dos genótipos de <i>T. vesiculosum</i> e das infestantes nos respetivos talhões	35
Quadro 19 - Teores de PB, ADF, NDF, ADL, cinza e digestibilidade da MS nos genótipos de <i>T. alexandrinum</i> (valores em % MS).....	36

Quadro 20 - Teores de PB, ADF, NDF, ADL, cinza e digestibilidade da MS nos genótipos de <i>T. glanduliferum</i> e <i>T. glomeratum</i> (valores em % MS)	37
Quadro 21 - Teores de PB, ADF, NDF, NDL, cinza e digestibilidade da MS nos genótipos de <i>T. hirtum</i> (valores em % MS)	37
Quadro 22 - Teores de PB, ADF, NDF, ADL, cinza e digestibilidade da MS nos genótipos de <i>T. michelianum</i> (valores em % MS)	38
Quadro 23 - Teores de PB, ADF, NDF, ADL, cinza e digestibilidade da MS nos genótipos de <i>T. resupinatum</i> (valores em % MS)	39
Quadro 24 - Teores de PB, ADF, NDF, ADL, cinza e digestibilidade da MS nos genótipos de <i>T. vesiculosum</i> (valores em % MS)	40

Índice de figuras

Figura 1 - Diagrama ombrotérmico de Elvas no ano agrícola 2016-2017	18
Figura 2 - Sementeira do ensaio	20
Figura 3 - Pacotes com as sementes do ensaio	20
Figura 4 - Esquema da disposição espacial dos talhões do ensaio experimental	21
Figura 5 - Esquema da unidade experimental/talhão.....	22
Figura 6 - Aspeto geral dos talhões experimentais	23
Figura 7 - Sintomas provocados nas plantas pela exposição ao frio e geadas	25

1. Introdução

O recenseamento agrícola realizado pelo Instituto Nacional de Estatística (INE) mostra que existem em Portugal mais de 1,8 milhões de hectares classificados como pastagens permanentes (INE, 2015). De uma forma geral são terrenos com pouca aptidão para uma utilização agrícola intensiva, que seja economicamente viável e ambientalmente sustentável. Uma das melhores formas de rentabilizar estas áreas é o recurso à pecuária extensiva em conjunto com pastagens melhoradas à base de gramíneas e leguminosas. Este tipo de pastagens já é utilizado em vastas áreas do território nacional, com provas dadas na melhoria das produções de matéria seca (MS), relativamente às pastagens naturais.

As pastagens permanentes semeadas e ricas em leguminosas permitem solucionar os dois problemas referidos acerca das áreas do país classificadas como pastagens permanentes. Por um lado possibilitam maiores encabeçamentos e melhor bem-estar animal com acesso a mais e melhor alimento. Desta forma, a rentabilidade da exploração aumenta. Por outro lado, vão melhorar os solos, enriquecendo-os em azoto, aumentando o teor de matéria orgânica que por sua vez permite que a componente biológica do solo prolifere, beneficiando a estrutura e agregação do solo, tornando-o mais arejado e permeável. Propiciam, ainda, as vantagens de prevenir a erosão e armazenar carbono, auxiliando na manutenção dos níveis de dióxido de carbono atmosférico. Assim, as pastagens permanentes desempenham um papel importante na busca por um ambiente mais sustentável.

Apesar da dimensão relativamente reduzida de Portugal podem ser encontradas, ao longo do país, uma grande diversidade de condições edafoclimáticas. Cada uma destas particularidades de solo e clima manifesta os seus próprios constrangimentos e dificuldades para as plantas. Assim, existem populações de determinadas espécies vegetais que são geneticamente distintas e bem adaptadas a um determinado local, os ecótipos. A recolha de germoplasma destas populações permite, e após um processo de seleção, melhoramento e avaliação, obter variedades com características distintas das que existem atualmente.

Dentro da família das leguminosas o género *Trifolium* inclui uma grande quantidade de espécies, algumas delas amplamente usadas em misturas para pastagens e forragens. Segundo Zohary e Heller (1984) apenas na bacia do mediterrâneo são conhecidas 110 espécies de trevos. Com toda esta variabilidade genética disponível é essencial a identificação de genótipos que apresentem boas características para uso agrícola, permitindo aumentar as opções de escolha, de forma a dar uma melhor resposta às diferentes condições edafoclimáticas.

É neste contexto que surge a necessidade da realização de ensaios que avaliem as características agronómicas e de qualidade de genótipos de plantas que, tendo passado pelo processo de melhoramento, se pretende demonstrar que possuem características

superiores ou distintas das variedades comerciais existentes e, desta forma, se mostram úteis para serem utilizadas em agricultura.

No caso do estudo realizado no âmbito desta dissertação, o ensaio consistiu na determinação do valor agronómico e utilização (VAU) de genótipos de sete espécies de trevos anuais: *T. alexandrinum*, *T. glanduliferum*, *T. glomeratum*, *T. hirtum*, *T. michelianum*, *T. resupinatum* e *T. vesiculosum*. O ensaio foi conduzido pelo Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV) no Pólo de Elvas. Além do ensaio VAU foi também feita a determinação da composição química – parâmetros bromatológicos dos genótipos em estudo, permitindo assim obter uma ideia do seu valor nutricional.

1.1. Ensaio Valor Agronómico e Utilização (VAU)

Com os ensaios de Valor Agronómico (VA) pretende-se determinar o valor do ponto de vista da aptidão para a cultura e produção nas condições nacionais, dos genótipos dos diferentes trevos propostos ao Catálogo Nacional de Variedades (CNV) em comparação com outras eleitas para testemunha, assim como apoiar a apreciação do seu Valor de Utilização (VU).

Ensaiam-se todos os genótipos que, em conformidade com o disposto nos Decreto-Lei nº 154/2004, de 30 de Junho, tenham sido objeto de proposta de inscrição no CNV e sejam admitidos aos ensaios de VA. O número e a localização destes ensaios, constituintes da Rede Nacional de Ensaaios de Variedades de Trevos, são fixados anualmente pela Direcção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV).

Estes ensaios serão instalados e conduzidos pelas Direcções Regionais de Agricultura e eventualmente com o apoio de outras organizações públicas ou privadas, em colaboração com a Divisão de Variedades e Sementes (DVS) da DGAV. Neste caso, a entidade responsável foi o INIAV.

1.2. Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.

O Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I. P. (INIAV) é o Laboratório de Estado, da área de competências da Agricultura, Florestas e Desenvolvimento Rural, que desenvolve atividades de investigação nas áreas agronómica e veterinária. Está integrado no tecido ou sistema científico de Portugal, a par com outros Laboratórios de Estado, Empresas que fazem Investigação e Instituições de Ensino Superior público e privado. Ao INIAV - Elvas (*Estação de Melhoramento de Plantas*) compete, entre outras atividades de investigação e desenvolvimento tecnológico:

- Desenvolver programas de melhoramento genético de espécies vegetais estratégicas para o desenvolvimento dos sistemas agrícolas, através da introdução de novas variedades com produções altas, estáveis e com qualidade.
- Promover a conservação dos recursos genéticos nacionais na área vegetal, em ligação com o Banco Português de Germoplasma Vegetal, através da criação e manutenção de coleções vivas e de bancos nacionais de germoplasma.

Há 75 anos (desde 1942) que o INIAV – Polo de Elvas (Estação de Melhoramento de Plantas) se dedica à obtenção de novas variedades, ou seja, ao melhoramento de diferentes espécies para diferentes sistemas agrários de Portugal. Ao longo destes anos, em que foram lançadas para o mercado vinte sete variedades de espécies pratenses e forrageiras, os objetivos e critérios de seleção definidos em cada programa de melhoramento foram sendo adaptados/ajustados às diferentes exigências do mercado, aos condicionalismos característicos de cada época e às perspetivas de evolução dos diferentes sistemas agrários. O modelo de funcionamento da Estação de Melhoramento de Plantas (INIAV-Elvas) baseia-se na estreita colaboração entre as suas equipas de investigação com a produção, a indústria e a distribuição (Carita, 2017).

2. Enquadramento teórico

As pastagens e forragens além de constituírem a base da alimentação animal, em especial dos ruminantes, em regime extensivo, têm um papel fundamental do ponto de vista ambiental, económico e social. Permitem recuperar e melhorar solos erodidos ou pouco férteis e auxiliam a mitigação das alterações climáticas aprisionando gases de efeito estufa no solo. Protegem o solo contra a erosão hídrica durante o Inverno e eólica durante o verão. Evitam o domínio da vegetação arbustiva e controlam a biomassa através de cortes e pastoreio, ajudando a prevenir incêndios (Leitão, 2002; Crespo, 2010). Têm um importante valor paisagístico e ajudam a conservar a biodiversidade, acautelando a erosão genética. Permitem a manutenção de empregos ligados às atividades agropecuárias em zonas rurais, em geral as mais afetadas pelo desemprego, combatendo o êxodo rural (Menezes de Sequeira, 1997).

As pastagens reduzem a dependência de rações, com preços elevados e muito voláteis devido à especulação de que são alvo as matérias-primas e do impacto que o preço do petróleo tem no custo destes alimentos. A redução da necessidade de rações e outros suplementos, através da aposta em pastagens e forragens produzidas na própria exploração, permite aumentar a rentabilidade e competitividade das empresas agropecuárias. As pastagens e forragens têm benefícios para o bem-estar e saúde animal que, quando alimentados neste regime, tendem a ser mais saudáveis do que quando a sua alimentação é feita exclusivamente à base de concentrados. A carne e o leite obtidos a partir da erva apresentam qualidade superior aos obtidos em regimes intensivos, com maiores teores de vitamina E, ácidos linoleicos e Omega 3 e menores quantidades de colesterol (Crespo, 2010).

Em Portugal, existiam em 2013 mais de 1,8 milhões de hectares de pastagens permanentes (INE, 2015), sendo a maior parte desta área correspondente a pastagens naturais (Teixeira *et al.*, 2011). Estas apresentam geralmente uma produção de matéria verde baixa e irregular (Lourenço *et al.*, 1994). Num levantamento feito no sul de Portugal de pastagens naturais em áreas de montado, a percentagem de leguminosas presentes nunca ultrapassou os 15% (Simões *et al.*, 2005). Esta escassez de leguminosas tem como consequência, uma pastagem de pouca qualidade que muito dificilmente garante teores de proteína adequados para os animais em pastoreio. O défice de leguminosas vai também penalizar a fertilidade do solo, que sem usufruir do azoto fixado biologicamente não vai poder sustentar elevadas produtividades. Num estudo liderado pelo INIAV foram comparadas as produções de matéria seca (MS) de pastagens naturais e semeadas, em quatro locais diferentes, e verificou-se que nas pastagens semeadas o aumento de MS se situou entre 1,5 e 3,3 vezes (Simões *et al.*, 2016).

As áreas dedicadas a pastagens em Portugal continental são geralmente terrenos sem aptidão agrícola, solos muitas vezes esqueléticos e erodidos, com uma fertilidade muito baixa, pH ácido, fraca capacidade de retenção de água e nutrientes ou problemas de drenagem, entre outras limitações. Para aumentar e suportar os encabeçamentos, recorre-se cada vez mais à instalação de pastagens melhoradas. Antes da sementeira destas pastagens melhoradas deve ser feito um levantamento das principais características edafoclimáticas. É ainda necessário ter em conta o método de condução da pastagem, sequeiro ou regadio e a sua duração, temporária ou permanente. Com estes dados, é possível recorrer a misturas biodiversas bem adaptadas às condições de cada local, para que seja assegurada uma boa produção de biomassa vegetal e a persistência das espécies na pastagem, através de ressementeira natural de forma a maximizar o investimento feito com a instalação. São por isso, de extrema importância os trabalhos de identificação e melhoramento de espécies autóctones, bem adaptadas às condições edafoclimáticas das várias regiões do nosso país. O nosso clima em condições de sequeiro impõe uma sazonalidade na produção e disponibilidade de erva verde no campo. O estabelecimento de diferentes pastagens biodiversas compostas por combinações de espécies de gramíneas e leguminosas, anuais e perenes, com diferentes épocas de crescimento, permite estender o período com disponibilidade de erva fresca (Consentino *et al.*, 2014). Sendo, portanto, fundamental a identificação de espécies que apresentem bons crescimentos nos períodos de menor disponibilidade de erva. Carranca *et al.* (2015b) concluíram que a variação interanual da precipitação tem uma influência significativa na produção de biomassa e na fixação simbiótica de azoto em pastagens. Assim, perante os cenários de períodos secos mais longos, deve ser dada prioridade a espécies e genótipos bem adaptados e que suportem eventos climáticos extremos.

As leguminosas representam um contributo fundamental nas pastagens melhoradas e forragens de qualidade, devido ao seu elevado teor proteico, complementando as gramíneas mais ricas em hidratos de carbono. Esta família botânica tem a particularidade de conseguir fixar o azoto atmosférico, devido a uma associação simbiótica entre as plantas e bactérias do género *Rhizobium*, incorporando este elemento químico na sua biomassa. Esta simbiose permite reduzir ou eliminar a dependência do azoto presente no solo, tendo assim extrema importância do ponto de vista agrícola e ecológico.

Em Viseu, em condições de sequeiro, foram determinados os teores de azoto na biomassa aérea e obtiveram-se valores de 124 kg N/ha em *T. michelianum*, 85 kg N/ha em *T. vesiculosum* e 55 kg N/ha em *T. glanduliferum* (Perdigão *et al.*, 2011). Portanto, a incorporação de leguminosas em misturas pratenses e forrageiras origina uma melhoria significativa da qualidade nutricional destes alimentos, devido à riqueza em proteína desta família de plantas. Permite também importantes ganhos económicos e ambientais,

derivados da relação simbiótica com o rizóbio que reduz ou mesmo anula a necessidade de fertilizações azotadas, o que vai mitigar a poluição resultante do fabrico e aplicação deste tipo de adubos e reduzir os encargos com fertilizantes e combustível das explorações agropecuárias. Assim, é possível a produção de alimento de elevada qualidade a baixo custo e com menor impacto ambiental.

No clima mediterrâneo, em sequeiro, a fixação simbiótica anual de azoto anda em média entre os 40 a 60 kg N/ha, sendo a escassez hídrica durante boa parte do ano o principal fator limitante (Muslera e Ratera, 1991). Em Portugal foram reportados valores de fixação simbiótica anual de azoto de 125 kg N/ha em *Vicia faba* e 107 kg N/ha em *Pisum sativum* (Carranca *et al.*, 1996), 96 kg N/ha em *Lupinus albus* e 69 kg N/ha em *Lupinus luteus* (Carranca *et al.*, 2015a), 37 kg N/ha (Carranca *et al.*, 1999) e 82 kg N/ha (Boucho, 2016) em *Trifolium subterraneum* e 99 kg N/ha em *Ornithopus sativus* (Boucho, 2016).

Na Irlanda, Burchill *et al.* (2014) observaram a fixação biológica de 128 kg N/ha em *Trifolium repens*. Na Nova Zelândia Sears *et al.* (1953) reportaram valores superiores a 600 kg N/ha em *Trifolium repens* com vários cortes ao longo do ano.

Dentro da família das leguminosas, o género *Trifolium* tem sido vastamente utilizado em misturas biodiversas, sendo a presença de espécies deste género praticamente obrigatória em misturas, quer para pastoreio, quer para corte. Neste momento o CNV inclui apenas 5 espécies de trevos das 110 conhecidas com origem na bacia do Mediterrâneo (Zohary e Heller, 1984). As espécies que constam atualmente no CNV são *T. michelianum*, *T. resupinatum*, *T. isthmocarpum*, *T. squarrosum*, *T. subterraneum* e *T. vesiculosum* (Sá *et al.*, 2017). Em Portugal podemos encontrar uma grande variedade de condições edafoclimáticas. Para além disso, com a incerteza provocada pelas alterações climáticas a nível global, torna-se cada vez mais importante a inclusão de novas espécies bem adaptadas às condições nacionais, de forma a diversificar as opções de escolha. Deste modo, cobre-se um maior leque de condições ambientais e torna-se possível dar uma melhor resposta aquando da instalação de novas pastagens e superfícies forrageiras, optando por espécies que garantam produtividades superiores, alimento de elevada qualidade e uma boa persistência no caso de pastagens permanentes. Segundo Consentino *et al.* (2014) a Europa Mediterrânica está classificada como estando em risco aumentado de seca estival. Estes autores sugerem que uma possível solução pode passar pela busca de espécies e ecótipos provenientes de regiões com climas semiáridos, abreviando assim o período com escassez de erva verde, aumentando a qualidade nutricional da alimentação animal e reduzindo os custos com suplementação alimentar.

Com os desafios de uma crescente população a nível mundial, das alterações climáticas, já existentes e previstas, e da degradação de muitos solos, o melhoramento de

plantas é uma prioridade para garantir a segurança alimentar (Muñoz *et al.*, 2017). Os programas de melhoramento permitem obter variedades com produtividade e qualidade superiores, melhor adaptação a certos ambientes e maior resistência a stresses bióticos e abióticos. Em determinados ambientes, os ecótipos locais podem ter um desempenho tão bom ou melhor que variedades comerciais (Tuttobene *et al.*, 2008). Assim sendo, é importante a seleção e avaliação de novos ecótipos, em particular os locais/autóctones, que estão particularmente bem adaptados, uma vez que evoluíram nas condições locais ao longo de milhões de anos. Para uma nova variedade ter sucesso comercial precisa também de cumprir certos requisitos, como um preço da semente competitivo, obtido através de um bom rendimento na colheita e facilidade no processamento das sementes; bons padrões de quebra da dureza que permitam uma boa renovação e persistência através de ressementeira natural; tolerância a pragas e doenças, para que não ocorram perdas de produtividade e as plantas tenham uma elevada resiliência (Loi *et al.*, 2008).

O melhoramento genético vegetal consiste em procurar e promover variações genéticas benéficas para a humanidade. Mais especificamente é, o desenvolvimento de novas variedades através da criação e identificação de variabilidade genética, gerada pela recombinação dos diversos genes existentes, recorrendo a diversas técnicas e tecnologias específicas.

Regra geral, a obtenção de uma variedade melhorada passa por 4 etapas chave (Carita *et al.*, 2016):

- 1) Obtenção e caracterização da variabilidade genética;
- 2) Seleção de genótipos ou populações superiores;
- 3) Avaliação da adaptabilidade do material vegetal selecionado;
- 4) Lançamento da variedade para comercialização.

Os programas de melhoramento de espécies pratenses e forrageiras, em curso no INIAV - Pólo de Elvas, têm como objetivo principal a obtenção de novas variedades com produções altas, estáveis e com qualidade. Os principais critérios de seleção são o bom crescimento invernal, alta produtividade de matéria seca e sementes, elevado nível de energia metabolizável, bom valor proteico, grande palatibilidade e boa persistência. Ao mesmo tempo promove-se a conservação dos recursos genéticos nacionais na área vegetal, em ligação com o Banco Português de Germoplasma Vegetal, através da criação e manutenção de coleções vivas e de bancos nacionais de germoplasma.

O conhecimento do tipo de polinização de uma espécie tem importância tanto em programas de melhoramento, como nos métodos de conservação em bancos de germoplasma (Nair *et al.*, 2007). Os trevos possuem, tendencialmente, um de dois tipos de

polinização, autogâmica ou alogâmica. Na autogamia ocorre autopolinização, ou seja, o pólen é proveniente do próprio indivíduo. Na alogamia a polinização é cruzada, isto é, ocorre a transferência de pólen entre indivíduos diferentes (Pollination, sem data). No género *Trifolium* a alogamia é assegurada principalmente por mecanismos de auto-incompatibilidade (Nair *et al.*, 2007). De uma forma geral, as espécies de trevos com comportamento mais pioneiro, adaptadas a colonizar ambientes novos com solos muitas vezes incipientes e condições mais hostis recorrem à polinização autogâmica. Já espécies de trevos mais produtivas que têm facilidade em colonizar ambientes mais férteis recorrem a polinização alogâmica. O *T. hirtum* e *T. glomeratum* são espécies com polinização autogâmica facultativa (Bennett e Mathews, 2003), o que faz com que a variação genética populacional seja mais reduzida, o que se traduz numa menor plasticidade genética na natureza, porém em programas de melhoramento é mais fácil a obtenção de plantas estáveis e homogéneas. Por outro lado, *T. resupinatum*, *T. michelianum*, *T. alexandrinum*, *T. glanduliferum* e *T. vesiculosum* têm polinização essencialmente alogâmica que, apesar da necessidade de polinizadores, introduz maior variabilidade genética e a potencial vantagem de uma maior probabilidade de adaptação, caso ocorra uma alteração repentina no ambiente (Bennett e Mathews, 2003). No processo de melhoramento, a alogamia introduz uma dificuldade adicional devido à maior diversidade e heterogeneidade das plantas, obrigando normalmente a mais gerações até se obter uma população estável.

Quando uma nova variedade vegetal tem características agronómicas superiores ou distintas às já existentes, é proposta a sua inscrição no Catálogo Nacional de Variedades (CNV). Sendo a sua inscrição aceite, passará assim a ser legalmente admitida a produção, certificação e comercialização de sementes dessa variedade. O CNV especifica para cada variedade as suas principais características, obtentor, responsável pela seleção de manutenção e ano de inscrição.

As variedades inscritas no CNV são submetidas a pelo menos dois anos de ensaios de campo e de laboratório, os quais têm como objetivo avaliar o seu Valor Agronómico (VA), o Valor de Utilização (VU) e a Distinção, Homogeneidade e Estabilidade (DHE). Desta forma, fica garantido que as variedades são distintas e originam culturas homogéneas, estáveis e produtivas.

Constam também no CNV as denominadas variedades de conservação, com o objetivo de valorizar e proteger as variedades autóctones e outras variedades naturalmente adaptadas às condições regionais e locais e ameaçadas pela erosão genética (Sá *et al.*, 2017).

Em Diário da República, Decreto-Lei 42/2017, de 6 de Abril, pode ler-se que “a inscrição no CNV é determinante para a qualidade da semente ou do propágulo colocados no mercado, aliando também a defesa dos interesses dos seus utilizadores, nomeadamente

dos agricultores, com a sustentabilidade da atividade de melhoramento vegetal e da sua propagação.” Assim, reconhece-se que a qualidade dos produtos obtidos na agricultura depende, em grande medida, da utilização de variedades vegetais adequadas e cujo material de propagação seja produzido e comercializado de acordo com um sistema de certificação uniformizado aplicado ao mercado interno da União Europeia e ao comércio internacional, i.e., da utilização de semente certificada. Usar semente certificada é garantia de qualidade, atestando identidade varietal, assegura um grau de pureza e de germinação elevados, bem como a isenção de pragas e doenças (Cordeiro de Sá, 2017).

2.1. Descrição das espécies em estudo

Apresentam-se de seguida as espécies em estudo, descrevendo algumas das características morfológicas e agronómicas mais relevantes de cada uma.

2.1.1. *Trifolium alexandrinum* L. (Bersim)

Porte ereto com caules grossos e suculentos. Floração entre Maio e Agosto (Sousa *et al.*, 2015). Bom crescimento invernal mas exigente em humidade e pouco resistente ao frio (Muslera e Ratera, 1991), não se encontrando normalmente em altitudes superiores a 500 metros (Sousa *et al.*, 2015). Tolerante à salinidade, solos alcalinos (Guerrero, 1992; Muhammad *et al.*, 2014) e períodos curtos de encharcamento (Hackney *et al.*, 2007a). Espécie com aptidão maioritariamente forrageira devido aos pontos de crescimento elevados, baixa percentagem de sementes duras e maturação tardia (Hackney *et al.*, 2007a), o que faz com que não tolere bem o pastoreio e tenha má ressementeira natural. Permite obter forragem de elevada qualidade quando usada para feno ou silagem. Quando cultivada em regadio, pode chegar a permitir seis a sete cortes entre Outubro e Junho (Muslera e Ratera, 1991). Esta espécie tem uma melhor produção de sementes quando polinizada (Bakheit, 1989). Em Portugal pode ser encontrada no Alentejo, Beira Litoral, Douro Litoral, Estremadura, Açores e Madeira (Sousa *et al.*, 2015). Permite produções superiores a 70 t/ha de peso fresco e superiores a 9 t/ha de peso seco (Muhammad *et al.*, 2014) e 7,1 e 7,2 t/ha com precipitações anuais de 600 mm (Hackney *et al.*, 2007a). Num ensaio realizado em condições de sequeiro em Córdoba, sul de Espanha, a produção máxima foi de 3,61 t/ha de MS (Muslera e Ratera, 1991), o que demonstra que é uma espécie melhor aproveitada em zonas com invernos mais amenos e precipitações anuais elevadas ou em regadio.

2.1.2. *Trifolium glanduliferum* Boiss. (Trevo-glandulífero)

Porte semi-ereto, não ultrapassando normalmente os 40 a 50 centímetros (Hackney *et al.*, 2007b). Características agronómicas semelhantes ao *T. resupinatum*, mas de ciclo mais precoce e moderada dureza das sementes (Efe Serrano, 2006), com 50% a 60% das sementes a perderem a dureza durante o verão (Hackney *et al.*, 2007b), o que garante persistência no banco de sementes do solo no caso de uma falsa abertura da estação outonal. Pouco competitivo e tem dificuldade em recuperar após pastoreio (Muir, 2017a). Boa adaptação a vários tipos de solos, desde bem drenados a periodicamente encharcados e com pH entre 6,5 e 8 (Hackney *et al.*, 2007b). Ciclo vegetativo muito curto (Muir, 2017a), que pode completar com uma precipitação anual de apenas 375 mm (Hackney *et al.*, 2007b). Na Austrália foram obtidas produções de MS de 3,4 t/ha com 480 mm de precipitação e 5,6 t/ha com uma precipitação de 600 mm (Hackney *et al.*, 2007b) e 2,5 t/ha com uma densidade de sementeira de 18 kg/ha (Masters *et al.*, 2006). Em Portugal foi obtida uma produtividade de 5,3 t/ha de MS, num ensaio realizado em Viseu (Perdigão *et al.*, 2011).

2.1.3. *Trifolium glomeratum* L. (Trevo-aglomerado)

Porte prostrado a semi-prostrado. Floração de Março a Junho (Sousa *et al.*, 2015). Adaptado a solos arenosos, siliciosos e oligotróficos (Monteiro *et al.*, 2014; Sousa *et al.*, 2015). Boa resistência à escassez hídrica e adaptação a solos pobres (Muslera e Ratera, 1991). Esta espécie encontra-se frequentemente em ambientes com pluviometria inferior a 400 mm (Simões *et al.*, 2004). Elevada percentagem de sementes duras que, em algumas variedades, pode ser superior a 50% e chegar mesmo a 100% (Hackney *et al.*, 2007c; Sousa *et al.*, 2015), o que faz com que esta espécie tenha uma boa capacidade de persistência. Quando passa do estado vegetativo para o reprodutivo, a sua palatabilidade parece diminuir e é menos consumida por ovelhas (Maxwell *et al.*, 2016). Esta característica é interessante uma vez que ajuda a garantir a persistência da espécie em pastagens permanentes. Pode ser encontrada por todo o território nacional, incluindo as ilhas (Sousa *et al.*, 2015). Pode fixar anualmente cerca de 13 kg de azoto por tonelada de MS (Dear *et al.*, 2003). No mesmo estudo foram obtidos 25 kg fixados por *T. subterraneum* cv. Clare. Apesar do valor de N fixado pelo *T. glomeratum* ser aproximadamente metade, pode ter um contributo importante em situações nas quais esta espécie tenha uma melhor adaptação ao meio do que outras leguminosas. Considera-se que tem particular interesse para solos pobres, revestimentos e enrelvamentos, devido à rusticidade desta espécie e ao facto do seu porte prostrado e crescimento pouco exuberante não competir com as culturas caso seja incluído em enrelvamentos. Resistente ao ácaro *Halotydeus destructor* (Masters *et al.*,

2006), uma espécie polífaga que causa estragos em muitas leguminosas anuais. Até à presente data, esta praga apenas está identificada na Austrália, Nova Zelândia, África do Sul e Zimbabué (Invasive Species Compendium, 2017), mas no futuro pode estender a sua distribuição e a resistência pode ser útil. Foram documentadas produções de MS próximas de 2 t/ha na Austrália (Hackney *et al.*, 2007c) e 1,89 t/ha na Nova Zelândia (Maxwell *et al.*, 2016).

2.1.4. *Trifolium hirtum* All. (Trevo-rosa)

Porte semi-prostrado a semi-ereto. Floração entre Fevereiro e Outubro (Sousa *et al.*, 2015). Espécie muito rústica e com grande resistência à seca na primavera (Simões *et al.*, 2004), vegeta bem em solos pobres e erodidos e é pouco exigente em humidade, pluviometrias de 250 a 300 milímetros são suficientes para completar o ciclo. Adapta-se bem a vários tipos de solos, arenosos a argilosos, e com pH muito ácido, neutro ou alcalino, desde que bem drenados (Muslera e Ratera, 1991; Simões *et al.*, 2004). Bom crescimento primaveril e boa tolerância ao pastoreio, mas a partir da floração este deve ser suspenso, devido às flores aéreas e muito atrativas para os animais (Guerrero, 1992). Pode ser usado em complemento ou substituição do *Trifolium subterraneum* em zonas com baixa pluviometria ou solos muito pobres, devido ao seu ciclo mais curto, resistência à seca e menores exigências nutritivas (Muslera e Ratera, 1991; Simões *et al.*, 2004; Efe Serrano, 2006). Bom crescimento durante o Inverno, mesmo com temperaturas baixas (Muslera e Ratera, 1991). Pode ser encontrado em boa parte do território continental, Algarve, Alentejo, Beiras, Douro Litoral, Estremadura, Ribatejo e Trás-os-Montes (Sousa *et al.*, 2015). Um ensaio levado a cabo pelo INIAV, com genótipos da coleção de trabalho desta instituição, originou uma produtividade média de 7,3 t MS/ha (N. Simões, 2017 - Comunicação pessoal). Num ensaio de 3 anos realizado na África do Sul foi obtida uma produtividade média de 3,22 t/ha de MS e máxima de 4,88 t/ha de MS, neste caso com uma precipitação de 373 mm (Wassermann e Wicht, 1972).

2.1.5. *Trifolium michelianum* Savi. (Trevo-balansa)

Porte semi-prostrado a ereto, pode chegar a um metro de altura, mas tem tendência a ficar prostrado quando pastoreado (Dear *et al.*, 2007). Floração entre Maio e Junho (Sousa *et al.*, 2015), com flores muito atrativas para as abelhas (Dear *et al.*, 2007). Adapta-se bem a diversas condições edafoclimáticas (Sousa *et al.*, 2015). Resistente a temperaturas negativas, até -6 °C (Aguiar e Rodrigues, 2011). Suporta solos húmidos ou sujeitos a encharcamento temporário (Monteiro *et al.*, 2014) e é moderadamente tolerante à salinidade

(Carmona *et al.*, 2004). Tolerar uma vasta gama de pH, desde solos ácidos a ligeiramente alcalinos (Aguilar e Rodrigues, 2011). Boa resistência ao pastoreio, recuperando bem após desfoliações, mas durante a floração o pastoreio deve ser controlado devido às inflorescências na extremidade dos caules, facilmente consumidas pelos animais (Aguilar e Rodrigues, 2011). Elevada percentagem de sementes duras que, dependendo da variedade, pode ir de 60% a mais de 90%, mas a ingestão das sementes pelo gado reduz essa percentagem, sem prejudicar a capacidade germinativa (Dear *et al.*, 2007; Aguilar e Rodrigues, 2011). Em Portugal pode ser encontrado no Baixo Alentejo, Beira Litoral, Estremadura e Trás-os-Montes (Sousa *et al.*, 2015). Na Austrália, foram obtidas produções de MS de 10,8 e 10,4 t/ha com precipitações anuais de 625 e 600 mm, respetivamente (Dear *et al.*, 2007) e em Portugal de 4,5 t/ha (Perdigão *et al.*, 2011).

2.1.6. *Trifolium resupinatum* L. (Trevo-da-Pérsia)

Porte semi-ereto, podendo chegar aos 60 cm de altura, mas quando pastoreado fica com um porte mais baixo, formando uma roseta (Suttie, 1999). Espécie com dupla aptidão, usada como forrageira e em pastagens, tanto em regadio como em sequeiro (Ate e Servet, 2004). Floração entre Março e Setembro (Sousa *et al.*, 2015). Adaptado a solos sujeitos a encharcamento temporário e eutrofizados (Monteiro *et al.*, 2014). Características morfológicas e agronómicas semelhantes ao *T. alexandrinum*, mas devido ao porte mais baixo, tolera melhor o pastoreio. É também mais resistente ao frio, suporta solos ácidos e mal drenados (Guerrero, 1992; Muslera e Ratera, 1991). Boa resistência à salinidade (Carmona *et al.*, 2004; Simões *et al.*, 2004). Apesar de suportar bem as temperaturas baixas, o crescimento é muito lento nestas condições (Suttie, 1999). Tem um elevado teor em proteína, mas menor digestibilidade para ovinos do que *Trifolium subterraneum* e *Medicago murex* (Li *et al.*, 1992). Alto valor nutritivo (Muir, 2017b). É frequentemente usado em pastagens permanentes em conjunto com *Trifolium subterraneum*, para estender o período com erva verde, após a senescência do trevo subterrâneo (Ate e Servet, 2004). Tem crescimento indeterminado, o que é particularmente útil no clima mediterrânico devido às grandes variações de disponibilidade hídrica típicas deste clima. Esta característica permite que a planta tenha um crescimento contínuo quando as condições são favoráveis ou possa parar temporariamente o desenvolvimento no caso de condições adversas, como vagas de calor ou stresse hídrico, e retomá-lo mais tarde quando melhorarem. Pode ser encontrado em todo o território nacional (Sousa *et al.*, 2015). Foram documentadas na Turquia produções de biomassa verde de 50 a 53 t/ha com pesos secos de 8,98 a 10,42 t/ha, com uma densidade de sementeira de 10 kg/ha (Ate e Servet, 2004). Num ensaio de três anos realizado pela EMBRAPA foram obtidas produtividades entre 2,8 e 4,1 t/ha de MS, com uma densidade de sementeira de 6 kg/ha (Gomes e Reis, 1999).

2.1.7. *Trifolium vesiculosum* Savi. (Trevo-vesiculososo)

Porte ereto, podendo chegar a um metro de altura. Baixo crescimento de outono-inverno, com o pico de crescimento na primavera e início do verão. Floração de Abril a Junho (Sousa *et al.*, 2015). Boa produção de semente, com elevada percentagem de sementes duras, mas devido ao porte ereto e às inflorescências terminais, se o pastoreio não for controlado na primavera existe o risco de desaparecer da pastagem (Efe Serrano, 2006). Boa tolerância à escassez hídrica devido ao sistema radicular profundo, característica que também permite que se mantenha verde durante mais tempo do que muitas outras espécies pratenses (Thompson, 2005). Mantém bons níveis de digestibilidade da matéria seca durante mais tempo que outros trevos devido a uma maturação mais lenta (Riffkin *et al.*, 2001). Vegeta melhor em pH ligeiramente ácido a neutro, solos alcalinos ou sujeitos a encharcamento vão prejudicar ou mesmo impedir o desenvolvimento desta espécie (Thompson, 2005). Dá-se bem em solos arenosos e com baixa retenção de água. As sementes resistem ao trato digestivo das ovelhas e a sua ingestão ajuda a quebrar a dormência, o que melhora a renovação da pastagem, principalmente no ano seguinte à instalação (Thompson, 2005). Em Portugal podia ser encontrado na serra do Açor e Trás-os-Montes, mas atualmente está introduzido em várias regiões do território devido à inclusão deste trevo em diversas misturas pratenses, forrageiras e de revestimento (Sousa *et al.*, 2015). Em Portugal foram obtidas produções de MS de 4,5 t/ha (Perdigão *et al.*, 2011) e na Austrália superiores a 7 t/ha de acordo com Thompson (2005). Este último autor reportou ainda produções de 9 t/ha em zonas com maior pluviometria e em anos favoráveis. No Brasil, a EMBRAPA obteve produções de MS entre 1,9 e 4,6 t/ha, com uma densidade de sementeira de 8 kg/ha (Gomes e Reis, 1999). No Chile, num estudo de 3 anos, Ovalle *et al.* (2005) obtiveram produções entre 625 e 4876 kg MS/ha, tendo ainda citado valores superiores a 7 t MS/ha noutro ensaio conduzido no mesmo país.

2.2. Composição química das espécies em estudo

A composição e análise química das pastagens e forragens permitem avaliar a proporção dos diferentes nutrientes e estimar a eficiência com que os animais os podem utilizar.

As análises realizadas mais frequentemente são a determinação dos teores de matéria seca (MS), de matéria orgânica (MO) e cinzas, de proteína bruta (PB), os constituintes parietais, como a fibra em detergente ácido (ADF), a fibra em detergente neutro (NDF) e a lenhina em detergente ácido (ADL), e a digestibilidade da MS (Jarrige, 1988).

A matéria seca (MS) é expressa em percentagem e representa a massa total do alimento, excepto o seu conteúdo em água. A noção da produção potencial de MS por

unidade de área numa pastagem ou superfície forrageira é de extrema utilidade uma vez que ajuda a estimar os encabeçamentos suportados por uma determinada área numa exploração agropecuária.

O valor nutritivo dos alimentos para animais é definido com base nos parâmetros da composição química. Estes parâmetros auxiliam em diversos cálculos e estimativas usadas em nutrição animal. Permitem ainda satisfazer os diferentes requisitos alimentares dos animais, que variam com a espécie ou fase de desenvolvimento, por exemplo uma vaca aleitante tem requisitos nutricionais muito mais exigentes que uma não aleitante (Buxton, 1996), que por sua vez tem requisitos diferentes de uma ovelha ou cabra.

Os principais parâmetros de qualidade em nutrição animal, segundo Saha *et al.* (2017), incluem:

A proteína bruta (PB), que representa o azoto total no alimento, incluindo o presente na proteína e noutros compostos azotados.

A fibra em detergente ácido (ADF), caracteriza a fração menos digerível dos alimentos, inclui lenhina, celulose e sílica. Teores elevados de ADF estão associados a pior digestibilidade dos alimentos e consequentemente menor energia metabolizável.

A fibra em detergente neutro (NDF), representa aproximadamente o total de fibra nos alimentos, contem a quase totalidade dos componentes da parede celular vegetal, incluindo hemicelulose, celulose, lenhina, sílica, taninos e cutinas. Teores elevados de NDF resultam em menor potencial de ingestão do alimento pelos animais.

A lenhina em detergente ácido (ADL), quantifica o teor de lenhina, este composto é indigerível e surge associado à celulose nas paredes celulares das plantas. Com o aumento do teor de lenhina decresce a digestibilidade da celulose, que tem como consequência a redução da energia potencialmente metabolizável pelo animal.

A digestibilidade da matéria seca, determinada *in vitro*, representa a fração da matéria seca que pode ser digerida pelos animais. É limitada pela fibra, sendo correlacionada inversamente com essa componente. Os ruminantes, devido às bactérias presentes no seu sistema digestivo, são capazes de digerir uma fração da fibra, sendo os animais que utilizam as plantas de forma mais eficiente. Por outro lado, os conteúdos celulares são facilmente digeríveis quer por ruminantes quer por monogástricos.

A cinza, o resíduo que permanece após a incineração da matéria orgânica, representa os elementos minerais inorgânicos.

A composição química dos alimentos é afetada por diversos fatores como o solo, o tipo de planta, a fertilização, as condições ambientais, estado fenológico, entre outros. De todos, o estado de desenvolvimento e de maturação da planta é o que impõe a maior influência sobre a composição química (Buxton, 1996). A informação do estado fenológico no momento da colheita do material vegetal é portanto indispensável, de forma a permitir a

comparação entre resultados. Independentemente deste pressuposto base, o ambiente em que as plantas se desenvolveram também origina impacto a sua composição química. Assim, genótipos iguais e colhidos na mesma fase de maturação podem exibir diferenças em determinados parâmetros derivadas da variabilidade interanual, localização geográfica ou práticas culturais a que as plantas foram sujeitas ao longo do seu desenvolvimento.

A digestibilidade da MS dos alimentos é afetada negativamente pelo teor de fibra, assim a digestibilidade diminui à medida que a maturação da planta avança, uma menor relação folhas/caule também leva a piores digestibilidades, uma vez que os caules possuem mais estruturas ricas em fibra e lenhificadas. A digestibilidade da MS das leguminosas é geralmente superior à das gramíneas, uma vez que as segundas apresentam teores de NDF superiores (Buxton, 1996).

O teor de proteína é mais elevado em plantas jovens que em plantas adultas. Com o avançar do estado fenológico o teor de proteína tende a diminuir por duas razões: i) Por um lado, plantas num estado de maturação mais avançado tendem a ter menor relação folhas/caule, sendo as folhas são mais ricas em proteína (Buxton, 1996) um rácio mais baixo implica menor disponibilidade deste componente; ii) Por outro, durante a formação e maturação das sementes os conteúdos proteicos tendem a ser remobilizados para os órgãos reprodutivos. As leguminosas atingem teores de proteína mais elevados que as gramíneas (Buxton, 1996), derivado do fornecimento adicional de azoto pela simbiose com o *Rhizobium*.

Os fatores ambientais que mais afetam a composição química das pastagens são a temperatura do ar e solo, défice ou excesso hídrico, radiação solar e nutrientes assimiláveis no solo.

Uma temperatura do solo favorável permite um melhor desenvolvimento radicular e das bactérias fixadoras de azoto, levando a uma melhor nutrição das plantas e melhores características nutricionais, da mesma forma contribui para um teor adequado de nutrientes no solo. Por outro lado, condições de asfixia radicular impossibilitam a assimilação de nutrientes prejudicando a qualidade, e se a duração for prolongada ou em variedades pouco tolerante pode levar mesmo à morte das plantas. Aplicações de azoto originam maiores teores de proteína, principalmente nas gramíneas o que melhora a digestibilidade, devido a estimular a atividade microbiana no rúmen. O fósforo é também um nutriente importante nas pastagens ricas em leguminosas devido à sua importância na fixação simbiótica do azoto.

Temperaturas do ar baixas levam a um abrandamento do crescimento e à acumulação temporária de açúcares provenientes da fotossíntese (Buxton, 1996), mas sem consequências significativas a longo prazo. Com o aumento das temperaturas a taxa de crescimento das plantas aumenta, o que reduz a razão folhas/caules e consequentemente a digestibilidade. Temperaturas muito elevadas também induzem a lenhificação dos tecidos, prejudicando assim a digestibilidade (Mueller e Orloff, 1994).

Um déficit hídrico moderado leva a uma redução da produção de MS e em geral a um aumento da qualidade, uma vez que nestas condições o crescimento dos caules é afetado mais severamente que o das folhas (Mueller e Orloff, 1994), levando a um aumento na proporção de folhas e, consequentemente a plantas com teores mais elevados de proteína e mais reduzidos de fibra. Um stresse hídrico severo diminui a qualidade do alimento devido à redução da fotossíntese, senescência das folhas e ao enfraquecimento ou quebra da relação simbiótica com o rizóbio, no caso das leguminosas.

Com recurso à informação disponível na bibliografia foi compilado, no quadro 1, um resumo das principais características nutricionais das espécies de trevos estudadas em função do seu estado fenológico.

Quadro 1 - Composição química das espécies em estudo

Espécie	Estado fenológico	MS (%)	(% MS)							Fonte
			MO	PB	FB	NDF	ADF	ADL	Digest MS	
<i>T. alexandrinum</i>	vegetativo	11,6	84,8	20,1	20,0	29,7	25,1	4,1 [12]	71,8	3
	plena flor.	25,6	88,7	19,4	26,7	42,8	34,3		69,1	3
<i>T. glanduliferum</i>	plena flor.			16,6			30,2		73,9	9
	plena flor.			21,0					75,0	8
<i>T. glomeratum</i>	plena flor.		90,7	14,3		33,2	28,5		70,0	4
	fim flor.	21,2	89,2	16,6	21,3	41,7	25,7	4,7		1
<i>T. hirtum</i>	vegetativo			22,0		55,0			67,1	6
	plena flor.		95,2	15,9			42,1	6,9		5
<i>T. michelianum</i>	plena flor.	13,2	88,7	14,2	14,4	29,4	17,5	3,7	76-82 [11]	1
<i>T. resupinatum</i>	plena flor.	11,8	89,4	20,8	22,0	34,0	27,6	5,5		2
	vegetativo	11,7	90,7	23,8	18,7				72,9	3
	plena flor.	18,0	89,8	22,4	17,2				73,9	3
<i>T. vesiculosum</i>	vegetativo			20,7*		36,8*			81 [13]	7
	início flor.	13,8[13]		22,3			22,0		70 [13]	10

1 - (Monteiro *et al.*, 2014); 2 - (Abreu *et al.*, 2000); 3 - (Tisserand e Alibés, 1990); 4 - (Maxwell *et al.*, 2016); 5 - (Ridley *et al.*, 1986); 6 - (Cannas e Pulina, 2007); 7 - (Gomes e Reis, 1999); 8 - (Hackney *et al.*, 2007); 9 - (Masters *et al.*, 2006); 10 - (Ovalle *et al.*, 2010); 11 - (Aguiar e Rodrigues, 2011); 12 - (Salama, 2015); 13 - (Ayala *et al.*, 2013). * média de 3 anos

Uma análise do quadro 1 permite reconhecer que existem diferenças evidentes entre a composição química de espécie para espécie. Esta desigualdade faz com que algumas espécies possuam uma composição nutricional mais vantajosa para a alimentação animal. O estado fenológico em que as plantas se encontram tem uma influência significativa na sua composição química. Assim, é essencial o seu conhecimento no momento do corte ou pastoreio de forma a permitir uma melhor comparação entre resultados.

3. Material e métodos

3.1. Localização

O ensaio experimental foi conduzido no polo do INIAV em Elvas, Estação de Melhoramento de Plantas, coordenadas 38°53'N, 7°08'O e 210 metros acima do nível do mar, entre Novembro de 2016 e Maio de 2017.

3.2. Clima

O clima de Elvas é mediterrânico, com um verão que atinge temperaturas elevadas e uma precipitação reduzida, sendo esta concentrada durante a estação fria. É também característica deste clima a ocorrência de uma grande variabilidade interanual. A temperatura média em Janeiro é de 8 °C e em Julho de 24,8 °C, a precipitação média anual de 604 mm (Feio, 1991). Segundo a classificação climática de Köppen, Elvas, insere-se no grupo Csa, clima temperado com verão seco e quente (Kottek *et al.*, 2006). O valor médio da precipitação anual na série climática 1961-1990 é de 535,4 mm (Gonçalves, 2015). No ano agrícola de 2016-2017 a precipitação acumulada foi de 464,5 mm.

No quadro 2 apresentam-se as temperaturas médias, máximas e mínimas e precipitação registadas no Pólo do INIAV em Elvas, no período de realização do ensaio.

Quadro 2 - Temperatura média, média das temperaturas máximas, média das temperaturas mínimas e precipitação acumulada, em Elvas, no período de Setembro de 2016 a Maio de 2017.

Mês	T média (°C)	T máxima (°C)	T mínima (°C)	Precipitação (mm)
Setembro	24,0	32,5	15,4	0,9
Outubro	19,1	25,8	12,4	68,7
Novembro	12,7	18,1	7,3	111,6
Dezembro	10,5	15,4	5,6	46,8
Janeiro	8,4	14,2	2,7	24,2
Fevereiro	11,7	16,5	6,9	85,9
Março	12,7	18,9	6,5	61,0
Abril	17,2	25,1	9,2	2,0
Maio	20,5	27,9	13,2	26,2

Fonte: INIAV

Na figura 1 pode ser observado o diagrama ombrotérmico, em Elvas, do ano agrícola da condução do ensaio.

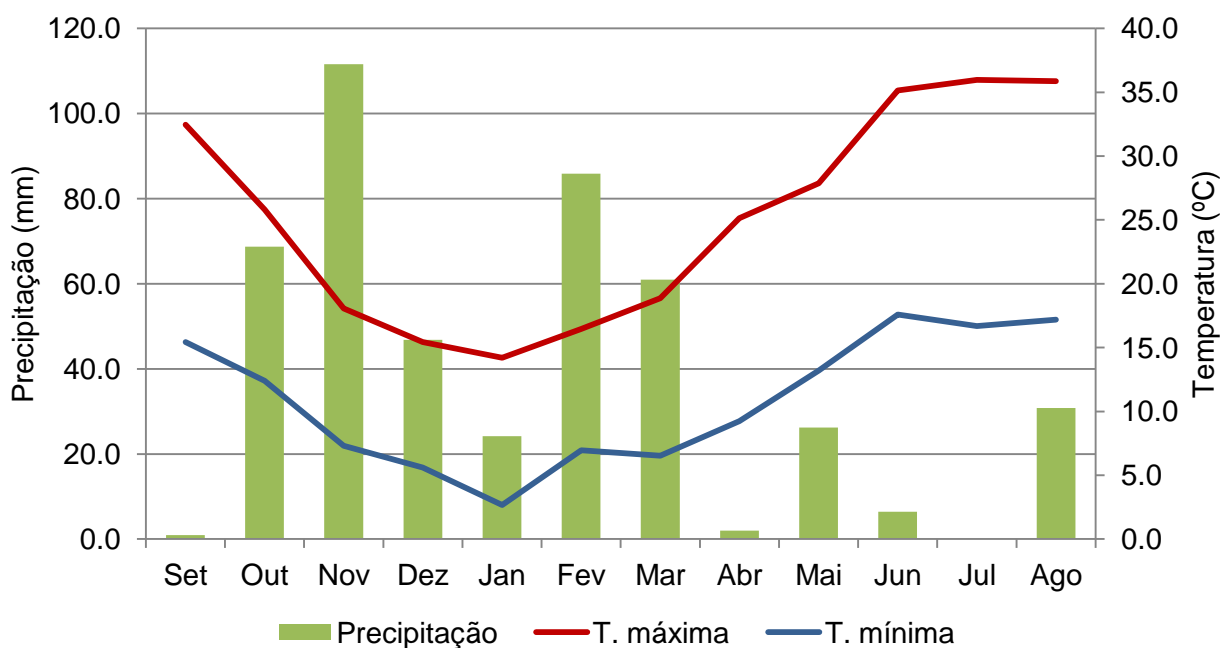


Figura 1 - Diagrama ombrotérmico de Elvas no ano agrícola 2016-2017

3.3. Solo

O ensaio experimental foi instalado num solo que não apresentava um declive significativo, de textura pesada, neutro com um pH (H_2O) de 7, um teor de matéria orgânica de 1,6% e sem problemas de salinidade, com uma condutividade de 0,09 mS/cm. Os teores dos macronutrientes fósforo e potássio extraíveis aferidos foram 181 mg P_2O_5 /kg e 168 mg K_2O /kg, representando valores altos de ambos os elementos. Nos teores de macronutrientes secundários foram analisados o magnésio e o cálcio extraíveis obtendo-se 464 mg Mg/kg e 2732 mg Ca/kg.

3.4. Material vegetal

O estudo realizado incidiu sobre um total de vinte genótipos de trevos, englobando sete espécies diferentes. Mais detalhadamente, foram avaliados cinco genótipos de *T. michelianum* e *T. resupinatum*, quatro de *T. alexandrinum*, dois de *T. hirtum* e *T. vesiculosum*, um genótipo de *T. glanduliferum* e um de *T. glomeratum*. Dos vinte genótipos

utilizados no ensaio, sete serviram como testemunha¹. Os restantes treze correspondiam a génotipos novos, selecionados por várias instituições. De referir que o *T. glomeratum* foi incluído no ensaio por ser uma linha avançada do INIAV.

O quadro 3 contém a correspondência entre o código do génotipo e a espécie que representa e o tipo de génotipo, se é um génotipo candidato ao CNV ou uma variedade testemunha. Inclui ainda o número identificativo da localização espacial no ensaio, que pode ser consultada na figura 2, secção 3.5.2. Delineamento experimental. Ao longo da dissertação os génotipos testemunha são identificados com um “T” sobrescrito (^T) de forma a facilitar a interpretação dos dados.

Quadro 3 - Génotipos testados no ensaio experimental

Tratamento	Código	Espécie	Rep I	Rep II	Rep III	Tipo génotipo
01	14183	<i>Trifolium alexandrinum</i>	101	215	304	Candidato
02	86060 ^T	<i>Trifolium alexandrinum</i>	112	216	309	Testemunha
03	16118	<i>Trifolium alexandrinum</i>	109	212	311	Candidato
04	16119	<i>Trifolium alexandrinum</i>	111	209	313	Candidato
05	14188	<i>Trifolium michelianum</i>	118	201	310	Candidato
06	16157	<i>Trifolium michelianum</i>	113	219	316	Candidato
07	16156 ^T	<i>Trifolium michelianum</i>	105	214	308	Testemunha
08	14190 ^T	<i>Trifolium michelianum</i>	115	213	315	Testemunha
09	14189 ^T	<i>Trifolium michelianum</i>	119	206	317	Testemunha
10	16139	<i>Trifolium hirtum</i>	114	202	312	Candidato
11	16153	<i>Trifolium hirtum</i>	320	207	302	Candidato
12	16155	<i>Trifolium glanduliferum</i>	107	120	307	Candidato
13	16154	<i>Trifolium vesiculosum</i>	116	218	303	Candidato
14	11180 ^T	<i>Trifolium vesiculosum</i>	106	203	318	Testemunha
15	14185	<i>Trifolium resupinatum</i>	102	204	306	Candidato
16	14186	<i>Trifolium resupinatum</i>	117	205	301	Candidato
17	15217	<i>Trifolium resupinatum</i>	103	211	319	Candidato
18	90047 ^T	<i>Trifolium resupinatum</i>	108	217	305	Testemunha
19	90046 ^T	<i>Trifolium resupinatum</i>	104	208	314	Testemunha
20	-	<i>Trifolium glomeratum</i>	110	210	220	Linha avançada

¹ - Variedade testemunha

¹ Devido à natureza do ensaio, a DGAV não identifica o nome comercial das variedades utilizadas como testemunha

3.5. Instalação e condução do ensaio

3.5.1. Operações culturais (preparação do solo, adubação, sementeira e controlo de infestantes)

A preparação do solo foi efetuada com recurso a uma grade de discos e posterior passagem com vibrocultor de forma a incorporar no solo os resíduos vegetais existente no terreno e atingir um esmiuçamento do solo adequado à germinação das sementes.

Foi aproveitada a preparação do solo para efetuar uma fertilização de fundo, tendo sido adicionados ao solo 200 kg/ha de um adubo 20-8-10 que veiculou 40 kg N/ha, 16 kg P_2O_5 /ha e 20 kg K_2O /ha.

A sementeira foi realizada em linhas simples espaçadas de vinte centímetros, no dia 17 de Novembro. As densidades de sementeira para cada espécie podem ser consultadas no quadro 4. Foram definidas tendo por base o conhecimento obtido experimentalmente e dados compilados pela DGAV e INIAV.

Quadro 4 - Densidade de sementeira por espécie

Espécie	Densidade de sementeira (kg/ha)
<i>Trifolium alexandrinum</i>	30
<i>Trifolium glanduliferum</i>	6,3
<i>Trifolium glomeratum</i>	15
<i>Trifolium hirtum</i>	25
<i>Trifolium michelianum</i>	5
<i>Trifolium resupinatum</i>	10
<i>Trifolium vesiculosum</i>	11



Figura 2 - Sementeira do ensaio



Figura 3 - Pacotes com as sementes do ensaio

No decurso do ensaio foi ainda efetuado um controlo das infestantes que se desenvolveram nos talhões do ensaio. O método usado foi um corte de limpeza, com recurso a um corta-mato.

3.5.2. Delineamento experimental

O delineamento experimental usado no ensaio foi de blocos completamente casualizados com três repetições. Na figura 4 está esquematizada a disposição do ensaio. No número identificativo de cada talhão o primeiro algarismo representa a repetição e os dois algarismos seguintes o tratamento. A figura 5 ilustra com mais detalhe cada talhão, que continha seis linhas de três metros, com uma entrelinha de vinte centímetros, totalizando uma área útil de 3,6 m². Foi ainda semeada uma bordadura, nos extremos de cada faixa, de talhões com as mesmas dimensões, também com plantas de *Trifolium* spp., indicadas pela letra B.

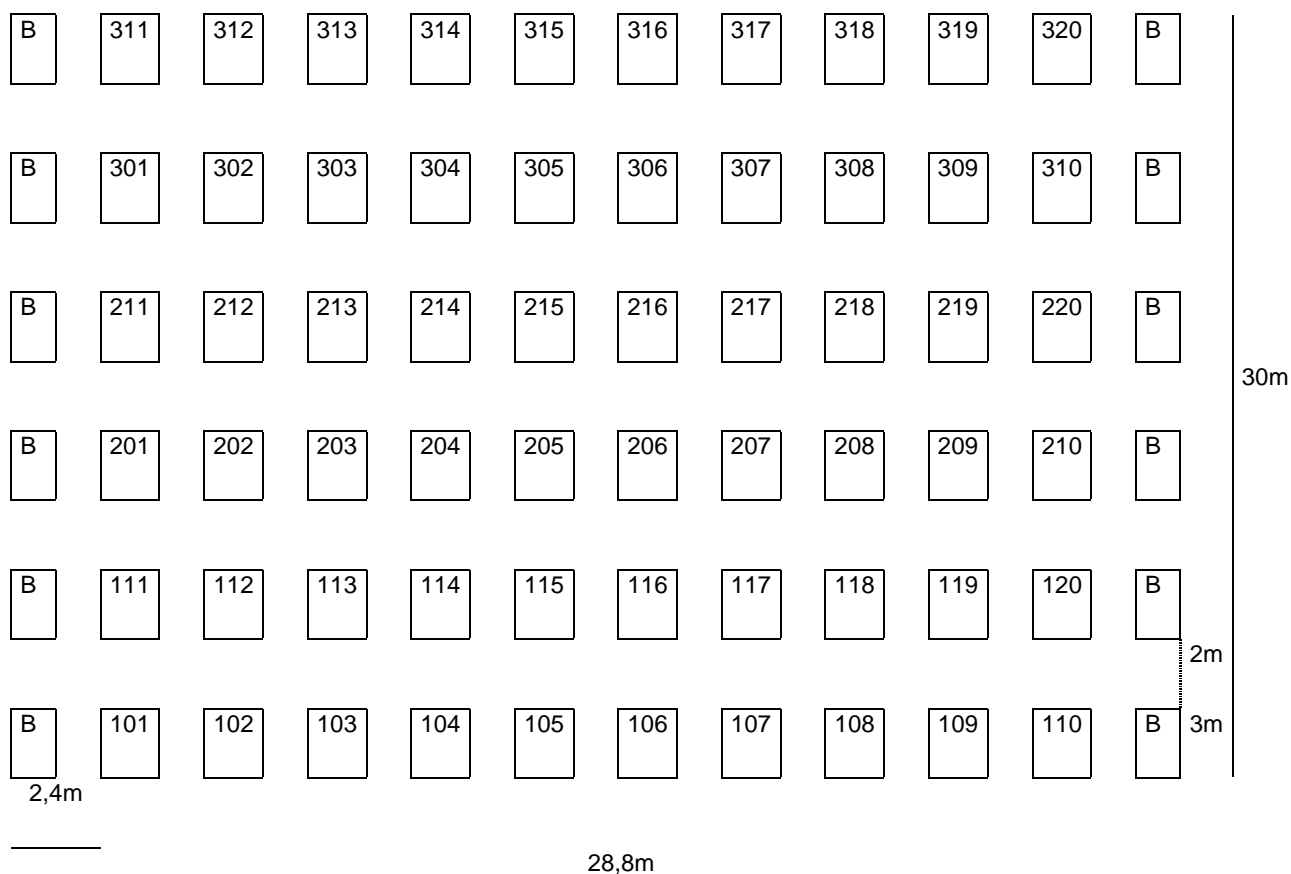


Figura 2 - Esquema da disposição espacial dos talhões do ensaio experimental

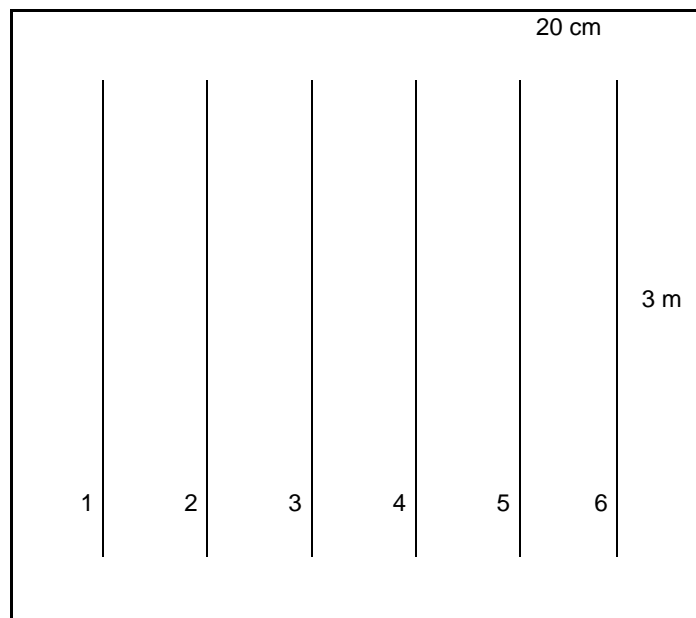


Figura 3 - Esquema da unidade experimental/talhão

3.5.3. Observações – parâmetros fenológicos, morfológicos e agronômicos

Em cada unidade experimental procedeu-se aos seguintes registos:

- 1) Data de emergência, o número de dias desde a sementeira à emergência de 50% das plantas;
- 2) Povoamento, ou seja ocupação do terreno pelas plantas;
- 3) Vigor, desenvolvimento, estado de saúde e força das plantas;
- 4) Sintomas de danos ou sensibilidade ao nível dos folíolos provocados por exposição ao frio e geadas.
- 5) Infestação dos talhões por plantas espontâneas.

Estes registos foram feitos com base em observação visual do aspeto global de cada talhão, com o auxílio de escalas qualitativas, convertidas para valores entre 1 e 9. Um resumo da correspondência pode ser consultado no quadro 5.

Quadro 5 - Escala das observações qualitativas feitas nos talhões do ensaio

Escala	1	3	5	9
Povoamento	90% ou mais	70% - 79%	Menos de 70%	0%
Vigor	Muito vigor	Bastante vigor	Vigorosas	Muito pouco vigor
Frio e geada	Ausência de sintomas	Sintomas em 25%	Sintomas em 50%	Sintomas em 100%
Infestação	Sem infestantes	Talhão pouco infestado	Talhão bastante infestado	Talhão muito infestado

No dia 25 de Janeiro foi feita a observação e registo da sensibilidade ao frio e geadas nos folíolos dos trevos.

No dia 8 de Março foram feitas as observações do povoamento, vigor e infestação.

Devido ao nível elevado de infestação, foi decidida a realização de um corte de limpeza no dia 14 de Março.

6) Data de início de floração: número de dias entre a emergência até que 5% das plantas iniciem a floração (DEF). Este parâmetro é importante em condições mediterrânicas de forma a garantir que quando chega a estação seca as plantas tenham a maturação completa, deixando sementes viáveis que permitam a ressementeira natural e assegurem a persistência das plantas nas pastagens.

7) Avaliação da produção de matéria seca (MS).

Como consequência da primavera seca apenas foi possível a realização de um corte para recolha da matéria verde produzida no ensaio. O corte foi fracionado em duas datas, 8 e 17 de Maio, de forma a abranger o maior número possível de genótipos na fase de início da floração. Em cada talhão foram recolhidas aleatoriamente duas amostras de biomassa, cada uma correspondente a uma área útil de 0,25 m² (0,5 m x 0,5m).

Após a recolha das amostras foi registado o seu peso total. Em seguida foi retirada uma subamostra, sempre que possível de 200 gramas, para determinação do teor de matéria seca (MS) e avaliação da composição química. Para tal, essa subamostra foi sujeita a separação botânica entre trevos e infestantes e por fim as amostras separadas botanicamente foram colocadas numa estufa de secagem a 65 °C durante 48 horas.



Figura 4 – Aspeto geral dos talhões experimentais

3.6. Métodos de caracterização laboratorial

As amostras de solo foram previamente secas ao ar e crivadas com um crivo de malha de 2 mm. Todas as determinações foram realizadas na terra fina (fração do solo de dimensão inferior a 2 mm).

A análise de terra foi realizada no laboratório de química agrícola da Escola Superior Agrária de Elvas. Foram utilizados os métodos analíticos de rotina:

- pH em H₂O, extração 1:2,5 (solo:água) por potenciometria;
- Condutividade elétrica com extração 1:2 (solo:água);
- Fósforo e Potássio extraíveis pelo método de Egner-Riehm (Égner *et al.*, 1960);
- Cálcio e Magnésio extraíveis por acetato de amónio a pH 7;
- Matéria orgânica pelo método de Walkley-Black (Walkley e Black, 1934).

A preparação do material vegetal para as análises das características nutricionais consistiu numa moenda num crivo de um milímetro de malha.

As análises do valor nutricional do material vegetal foram realizadas no laboratório de qualidade do INIAV em Elvas. Determinaram-se os seguintes parâmetros:

- Proteína bruta, pelo método de Kjeldahl segundo a norma: NP EN ISO 5983-1: 2007;
- Fibra em detergente neutro, segundo a norma: ISO 16472: 2013;
- Fibra em detergente ácido, segundo a norma: ISO 13906: 2008;
- Lignina em detergente ácido, segundo a norma: ISO 13906: 2008;
- Teor de cinza, segundo a norma: NP ISO 5984:2014;
- Digestibilidade *in vitro* da matéria seca, pelo método de Tilley e Terry (1963), com modificações de acordo com Jones e Hayward (1975).
- Humidade, segundo a norma: NP 875:1994.

3.7. Análise estatística

O tratamento estatístico dos dados foi feito com recurso a uma ANOVA para testar a igualdade das médias populacionais. Nos casos em que as médias populacionais eram significativamente diferentes seguiu-se um teste de *Tukey* para identificar quais as médias diferentes. Os *softwares* utilizados no tratamento dos dados foram o *Excel*, para a ANOVA e o *R* para o teste de *Tuckey*. Em todos os testes foi considerado um nível de significância (α) de 0,05.

4. Resultados e discussão

4.1. Índices fenológicos, morfológicos e agronômicos

A emergência das plântulas deu-se no dia 30 de Novembro para todos os genótipos de *Trifolium alexandrinum* e dia 4 de Dezembro para as restantes espécies.

Não foram observados estragos provocados pela exposição ao frio e geadas em nenhuma planta. Apesar disto, em algumas plantas manifestaram-se sintomas, com as folhas a adquirirem uma tonalidade avermelhada, como pode ser observado na figura 7.



Figura 5 - Sintomas provocados nas plantas pela exposição ao frio e geadas

Devido ao inverno particularmente frio e seco as plantas tiveram um crescimento inicial lento. No dia 8 de Março as plantas de todos os genótipos encontravam-se ainda na fase vegetativa.

No decurso do ensaio não foram observados quaisquer danos provocados por pragas ou doenças nos trevos.

Os talhões do ensaio ficaram fortemente invadidos por várias espécies vegetais, sendo 3 géneros os mais frequentes. Numa fase mais inicial do ensaio por Apiáceas do género *Daucus* spp. (cenouras bravas). Após o corte de limpeza por Asteráceas dos géneros *Chamaemelum* spp. (margaças) e *Chrysanthemum* spp. (pampilhos).

Em todos os talhões foi observado um nível de infestação muito elevado, provavelmente devido ao inverno particularmente frio e seco que penalizou bastante o desenvolvimento dos trevos, uma vez que é característico das leguminosas terem um crescimento inicial lento com temperaturas baixas, permitindo assim a instalação e desenvolvimento de um grande número de plantas infestantes. Para ilustrar a severidade do clima ocorrido durante o ensaio refere-se que a precipitação acumulada durante o mês de Dezembro foi de 46,8 mm e durante Janeiro de apenas 24,2 mm. Em Janeiro registaram-se também temperaturas muito baixas, com vários dias a atingirem mínimas inferiores a 0 °C, chegando a -3,5 °C no dia mais frio.

O quadro 6 mostra os registos de temperatura e precipitação, entre a data de sementeira e a data da recolha da última amostra, agrupados em intervalos de dez dias.

Quadro 6 - Registos das temperaturas média, máxima e mínima (°C) e precipitação (mm) durante o ensaio, agrupados em intervalos de dez dias

Intervalo	T. média	T. máxima	T. mínima	Precipitação
17/11 a 26/11	10,82	16,30	5,34	97,30
27/11 a 6/12	11,76	15,42	8,09	18,70
7/12 a 16/12	10,94	15,69	6,18	28,10
17/12 a 26/12	9,50	15,02	3,97	0,10
27/12 a 5/1	9,58	14,39	4,76	7,40
6/1 a 15/1	8,75	15,08	2,42	0,20
16/1 a 25/1	6,66	13,66	- 0,34	0,00
26/1 a 4/2	10,95	15,00	6,90	31,80
5/2 a 14/2	10,42	15,07	5,77	69,90
15/2 a 24/2	12,48	17,83	7,12	0,10
25/2 a 6/3	11,14	16,15	6,13	18,10
7/3 a 16/3	14,95	21,46	8,44	0,70
17/3 a 26/3	11,49	18,03	4,94	19,60
27/3 a 5/4	13,75	20,82	6,68	23,30
6/4 a 15/4	17,34	26,51	8,16	0,00
16/4 a 25/4	19,30	27,17	11,42	0,10
26/4 a 5/5	16,91	23,69	10,12	4,50
6/5 a 15/5	18,21	24,89	11,52	19,60
16/5 a 17/5	25,20	32,00	18,40	0,00

Uma análise ao quadro 6 permite observar que a precipitação total acumulada durante o ensaio foi inferior a 340 mm, sendo que mais de 97 mm ocorreram nos dez dias seguintes à sementeira. No período de 17 de Dezembro a 25 de Janeiro a precipitação foi praticamente nula, e entre 16 de Janeiro e 26 de Janeiro as temperaturas foram particularmente baixas com uma média das mínimas abaixo de zero graus Celsius. Também durante a primavera a precipitação foi praticamente desprezável, do período de 6 de Abril até ao final do ensaio a precipitação acumulada foi de apenas 24 mm. Esta escassez de

precipitação sujeitou as plantas a um elevado stresse hídrico em fases críticas do desenvolvimento, principalmente durante a primavera quando a evapotranspiração é mais elevada, coincidindo com o pico de crescimento vegetal. Este défice hídrico contribuiu para as baixas produções de biomassa obtidas no ensaio.

4.1.1. *Trifolium alexandrinum*

No quadro 7 são apresentadas as médias das observações feitas nos talhões que continham plantas dos genótipos de *T. alexandrinum*.

Quadro 7 - Observações do povoamento, vigor, sintomas de danos provocados por frio e geada, infestação e DEF nos talhões correspondentes aos genótipos de *T. alexandrinum*

Genótipo	Povoamento	Vigor	Frio e geada	Infestação	DEF
Talex 14183	3	3	9	8	153
Talex 16118	2	2	8	8	153
Talex 86060 ^T	2	2	5	8	153
Talex 16119	1	2	3	8	141

As plantas dos genótipos de *T. alexandrinum* foram as primeiras a emergir, apenas 13 dias após a sementeira. As plantas de todos os genótipos, deste grupo, apresentaram um bom desenvolvimento inicial com bons níveis de vigor e uma boa colonização do terreno, o que comprova o seu bom crescimento invernal.

Por outro lado foi também nesta espécie que os sintomas de danos por frio e geada se mostraram mais evidentes, principalmente nos genótipos 14183 e 16118 onde praticamente todas as plantas do talhão apresentavam sintomas. Esta ocorrência está de acordo com a bibliografia, onde o Bersim é descrito como pouco resistente ao frio (Muslera e Ratera, 1991) e normalmente incomum em altitudes superiores a 500 m (Sousa *et al.*, 2015). Tal demonstra que é uma espécie pouco adaptada a climas mais frios ou altitudes elevadas.

Esta espécie teve em média os ciclos vegetativos mais longos, registando os maiores intervalos entre a emergência e o início de floração. Quase sempre de 153 dias, com exceção para o genótipo 16119, mais precoce, que entrou na fase reprodutiva em 141 dias.

O genótipo 16119 mostrou-se bastante interessante em termos de estabelecimento inicial, superando a testemunha, 86060, no povoamento e resistência ao frio e igualando-a em termos de vigor das plantas.

4.1.2. *Trifolium glanduliferum* e *Trifolium glomeratum*

No quadro 8 constam as médias das observações feitas nos talhões que continham plantas dos genótipos de *T. glanduliferum* e *T. glomeratum*.

Quadro 8 - Observações do povoamento, vigor, sintomas de danos provocados por frio e geada, infestação e DEF nos talhões correspondentes aos genótipos de *T. glanduliferum* e *T. glomeratum*

Genótipo	Povoamento	Vigor	Frio e geada	Infestação	DEF
Tglan 16155	6	4	1	9	117
Tglom	6	5	1	8	119

As duas espécies apresentaram um povoamento baixo, deixando áreas consideráveis dos talhões a descoberto. Ambas as espécies são descritas como possuindo uma elevada dureza das sementes, principalmente o *T. glomeratum*, onde a percentagem de sementes duras pode atingir os 100% (Hackney *et al.*, 2007b; Hackney *et al.*, 2007c). Este facto pode ter contribuído para uma deficiente germinação, mesmo após a escarificação das sementes, explicando assim os baixos níveis de povoamento. O *T. glanduliferum* exibiu o melhor vigor na data das observações, mas ainda assim com um crescimento pouco vigoroso.

Ambos os trevos revelaram uma ótima resistência ao frio e geadas apresentando os folíolos saudáveis e sem sintomas, evidenciando que podem ser bem adaptadas a climas frios e zonas de altitude.

Apresentaram dos ciclos vegetativos mais curtos dos genótipos em estudo, a par com os genótipos de *T. michelianum*, o que está de acordo com as características reportadas por Efe Serrano (2006) e Simões *et al.* (2004).

4.1.3. *Trifolium hirtum*

No quadro 9 apresentam-se as médias das observações feitas nos talhões que continham plantas dos genótipos de *T. hirtum*.

Quadro 9 - Observações do povoamento, vigor, sintomas de danos provocados por frio e geada, infestação e DEF nos talhões correspondentes aos genótipos de *T. hirtum*

Genótipo	Povoamento	Vigor	Frio e geada	Infestação	DEF
Thir 16139	3	5	4	8	144
Thir 16153	6	6	4	9	123

O genótipo 16139 apresentou o melhor estabelecimento inicial, dos dois de *T. hirtum* em estudo. Este, apesar de apresentar pouco vigor, superou o 16153 que além de menor vigor expôs também um povoamento mais errático.

As plantas dos dois genótipos apresentavam-se em cerca de metade do talhão com sintomas causados por frio e geadas visíveis nos folíolos, o que pode indicar que não sejam particularmente resistentes ao frio. Estas observações não estão de acordo com a descrição de bom crescimento invernal, mesmo com baixas temperaturas referidas por Muslera e Ratera (1991).

O genótipo 16153 mostrou ter o ciclo vegetativo mais precoce, atingindo a floração em 123 dias, menos 21 dias que o 16139. Esta diferença expressiva na duração do ciclo vegetativo demonstra a grande variabilidade que pode ser expressa por diferentes genótipos da mesma espécie. Realça ainda a importância deste trabalho, com espécies menos estudadas, onde os dados e referências bibliográficas são muito escassos, permitindo estudar as características e comportamento destas espécies nas nossas condições e sistemas pratenses.

4.1.4. *Trifolium michelianum*

No quadro 10 são apresentadas as médias das observações feitas nos talhões que continham plantas dos genótipos de *T. michelianum*.

Quadro 10 - Observações do povoamento, vigor, sintomas de danos provocados por frio e geada, infestação e DEF nos talhões correspondentes aos genótipos de *T. michelianum*

Genótipo	Povoamento	Vigor	Frio e geada	Infestação	DEF
Tmich 14188	6	4	2	8	119
Tmich 14189 ^T	5	4	2	8	113
Tmich 14190 ^T	4	4	2	8	117
Tmich 16156 ^T	3	3	2	9	119
Tmich 16157	5	6	1	8	125

As plantas dos novos genótipos, 14188 e 16157, não evidenciaram um desenvolvimento superior ao das testemunhas, apresentando parâmetros de povoamento e vigor sempre semelhantes ou inferiores. Os melhores resultados foram obtidos pelo genótipo 16156 com índices de vigor e povoamento razoáveis.

Todos os genótipos exibiram boa resistência ao frio e geada, com destaque para as plantas do 16157 onde não foram observados sintomas. Tal está de acordo com Aguiar e Rodrigues (2011) que referiram a resistência desta espécie a temperaturas baixas, que podem chegar aos -6 °C.

Todos os genótipos apresentaram ciclos vegetativos relativamente curtos. O maior foi registado no genótipo 16157 com 125 dias. O mais curto no genótipo 14189, de apenas 113 dias, o mais precoce de todo o ensaio, pelo que pode ser interessante no caso de necessidade de uma variedade com boa tolerância ao frio e precocidade, de forma a produzir semente antes da chegada da estação seca, garantindo assim a persistência das plantas na pastagem.

4.1.5. *Trifolium resupinatum*

No quadro 11 constam as médias das observações feitas nos talhões que continham plantas dos genótipos de *T. resupinatum*.

Quadro 11 - Observações do povoamento, vigor, sintomas de danos provocados por frio e geada, infestação e DEF nos talhões correspondentes aos genótipos de *T. resupinatum*

Genótipo	Povoamento	Vigor	Frio e geada	Infestação	DEF
Tres 14185	6	6	2	8	133
Tres 14186	6	8	1	8	132
Tres 15217	4	3	2	8	126
Tres 90046 ^T	3	3	1	8	124
Tres 90047 ^T	4	3	1	8	133

Os genótipos testemunha, 90046 e 90047, apresentaram um bom desenvolvimento inicial, mostrando os melhores valores de povoamento e vigor. Dos novos genótipos, apenas o 15217 conseguiu igualar o 90047 relativamente ao vigor, embora com um povoamento ligeiramente mais baixo que o 90046. O genótipo 14186 foi o que apresentou o pior desenvolvimento, principalmente em termos de vigor, com plantas ananizadas e muito pouco vigorosas. Suttie (1999) descreveu a espécie como tendo uma boa resistência as temperaturas baixas, mas com um desenvolvimento muito lento nestas condições.

Todos os genótipos evidenciaram boa tolerância ao frio e geadas, com ausência total ou ocorrência muito reduzida de sintomas, com apenas algumas plantas afetadas por talhão, observações que estão de acordo com as reportadas na bibliografia (Guerrero, 1992; Muslera e Ratera, 1991).

Os ciclos vegetativos variaram entre 124 dias para o genótipo 90046, o mais precoce e 133 dias nos mais tardios.

4.1.6. *Trifolium vesiculosum*

No quadro 12 são apresentadas as médias das observações feitas nos talhões que continham plantas dos genótipos de *T. vesiculosum*.

Quadro 12 - Observações do povoamento, vigor, sintomas de danos provocados por frio e geada, infestação e DEF nos talhões correspondentes aos genótipos de *T. vesiculosum*

Genótipo	Povoamento	Vigor	Frio e geada	Infestação	DEF
Tves 11180 ^T	5	4	1	9	138
Tves 16154	3	3	3	8	142

O genótipo candidato ao CNV, 16154, mostrou melhores resultados no desenvolvimento inicial que a testemunha, tanto em termos de povoamento como de vigor. Apesar de Efe Serrano, (2006) descrever o *T. vesiculosum* como tendo um baixo

crescimento durante o período de outono-inverno, os dois genótipos em estudo apresentaram o desenvolvimento satisfatório em comparação com algumas das outras espécies em estudo.

Por outro lado, o genótipo 16154 não evidenciou ser tão resistente ao frio. Enquanto a testemunha 11180 não teve qualquer planta com sintomas de ter sido afetada por frio ou geadas, nos talhões do genótipo 16154 cerca de 25% das plantas exibiram sintomas de danos.

Os ciclos vegetativos não sendo dos mais longos entre os genótipos em estudo situaram-se próximos, com 138 dias para o genótipo 11180, sendo o 16154 4 dias mais tardio.

4.2. Produtividade de matéria seca

O conhecimento das produtividades potencialmente alcançáveis por uma determinada espécie, normalmente reportadas em massa de MS por unidade de área, é uma informação de enorme importância pois auxilia no manejo do efetivo animal de uma exploração.

Devido à elevada biomassa de infestantes que se desenvolveu nas unidades experimentais, frequentemente atingindo valores superiores à dos trevos em avaliação, foi decidida a inclusão da produção de MS de infestantes de forma a ajudar a explicar os resultados. Permite ainda dar uma ideia da capacidade competitiva dos genótipos em estudo, sujeitos às condições climáticas verificadas durante o ensaio.

A biomassa de infestantes pode ser explicada devido ao estabelecimento inicial lento dos trevos, devido às temperaturas baixas e stresse hídrico a que estiveram sujeitos durante o período invernal, o que deu oportunidade à instalação e desenvolvimento de infestantes bem adaptadas a estas condições climáticas.

4.2.1. *Trifolium alexandrinum*

No quadro 13 são apresentadas as produções médias de MS, em kg/ha, dos trevos e infestantes, estimadas a partir dos cortes feitos nos talhões que continham plantas dos genótipos de *T. alexandrinum*.

Quadro 13 - Produção média de matéria seca (kg/ha) dos genótipos de *T. alexandrinum* e das infestantes nos respectivos talhões

Genótipo	Produções de MS (kg/ha)	
	Trevos	Infestantes
Talex 14183	743	2640
Talex 16118	1007	1829
Talex 16119	727	2238
Talex 86060 ^T	1057	2099

As produções médias de MS dos genótipos de *T. alexandrinum* em estudo não se mostraram significativamente diferentes entre si. O genótipo testemunha, 86060, originou uma produtividade média, de 1057 kg/ha. Quanto aos novos genótipos, o 16118 produziu 1007 kg/ha, sendo o que apresentou uma produtividade média que mais se aproximou da obtida com a testemunha. As produtividades de todos os genótipos ficaram muito abaixo das obtidas por outros autores que documentaram produções de MS superiores a 7 t/ha na Austrália (Hackney *et al.*, 2007a) e de 3,61 t/ha no sul de Espanha (Muslera e Ratera, 1991). Muslera e Ratera (1991) descrevem a espécie como sendo pouco resistente ao frio e exigente em humidade, pelo que o mês de Janeiro, particularmente frio e a primavera seca contribuíram para um impacto negativo na produção de biomassa. Também o corte de limpeza e a reduzida precipitação após este, podem ajudar a explicar os baixos valores de MS obtidos, uma vez que a espécie tem os meristemas vegetativos elevados (Hackney *et al.*, 2007a) podendo ter sido danificados durante o corte, que em conjunto com o stresse hídrico prejudicaram o recrescimento e consequentemente a biomassa acumulada na data de recolha das amostras.

4.2.2. *Trifolium glanduliferum* e *Trifolium glomeratum*

No quadro 14 constam as produções médias de MS, em kg/ha, dos trevos e infestantes, estimadas a partir dos cortes feitos nos talhões que continham plantas dos genótipos de *T. glanduliferum* e *T. glomeratum*.

Quadro 14 - Produção média de matéria seca (kg/ha) dos genótipos de *T. glanduliferum*, *T. glomeratum* e das infestantes nos respectivos talhões

Genótipo	Produções de MS (kg/ha)	
	Trevos	Infestantes
Tglan 16155	553	1738 ^B
Tglom	463	3030 ^A

Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente, $\alpha=0,05$

Não foram observadas diferenças significativas entre as produções médias de MS dos dois genótipos. A produção de MS das infestantes foi significativamente superior nos talhões

de *T. glomeratum*. Foram precisamente estes os talhões com a massa de infestantes mais elevada observada em todo o ensaio, o que pode indicar uma baixa capacidade competitiva do genótipo de *T. glomeratum*, pelo menos com este tipo de solo e nas condições climáticas que se verificaram ao longo do ensaio. O *T. glanduliferum* é pouco competitivo e tem dificuldade em recuperar o crescimento depois de pastoreado (Muir, 2017a) o que pode explicar a reduzida produção de biomassa após o corte de limpeza.

As produções de MS de ambos os genótipos mostraram-se consideravelmente inferiores às obtidas por outros autores. Para o *T. glanduliferum* na Austrália estão reportados 2,5 t/ha (Masters *et al.*, 2006) e entre 3,4 t/ha e 5,6 t/ha (Hackney *et al.*, 2007b). Em Portugal, Perdigão *et al.* (2011) reportaram valores de 5,3 t MS/ha. No caso do *T. glomeratum* foram obtidas produções de MS próximas de 2 t/ha na Austrália (Hackney *et al.*, 2007) e 1,89 t/ha na Nova Zelândia (Maxwell *et al.*, 2016).

4.2.3. *Trifolium hirtum*

No quadro 15 apresentam-se as produções médias de MS, em kg/ha, dos trevos e infestantes, estimadas a partir dos cortes feitos aos talhões que continham plantas dos genótipos de *T. hirtum*.

Quadro 15 - Produção média de matéria seca (kg/ha) dos genótipos de *T. hirtum* e das infestantes nos respetivos talhões

Genótipo	Produções de MS (kg/ha)	
	Trevo	Infestantes
Thir 16139	3477 ^A	2027
Thir 16153	1099 ^B	1913

Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente, $\alpha=0,05$

O genótipo 16139 com uma produção de MS de 3477 kg/ha mostrou a produtividade mais elevada de todas as espécies avaliadas. Valor enquadrado com os 3,22 a 4,88 t MS/ha reportados por Wassermann e Wicht (1972), mas inferior à produtividade média de 7266 kg MS/ha obtido noutro ensaio realizado pelo INIAV (N. Simões, 2017 - comunicação pessoal). Este genótipo mostrou possuir uma elevada rusticidade, permitindo boas produções de MS mesmo num ano com condições climáticas adversas e com um nível de infestação muito elevado. Os resultados estão de acordo com a descrição de elevada resistência ao stresse hídrico reportado por vários autores (Muslera e Ratera, 1991; Simões *et al.*, 2004; Efe Serrano, 2006). Desta forma o *T. hirtum* demonstra ser uma espécie muito bem adaptada a condições edafoclimáticas que impliquem um défice de disponibilidade hídrica para as plantas.

4.2.4. *Trifolium michelianum*

No quadro 16 são apresentadas as produções médias de MS, em kg/ha, dos trevos e infestantes, estimadas a partir dos cortes feitos aos talhões que continham plantas dos genótipos de *T. michelianum*.

Quadro 16 - Produção média de matéria seca (kg/ha) dos genótipos de *T. michelianum* e das infestantes nos respectivos talhões

Genótipo	Produções de MS (kg/ha)	
	Trevos	Infestantes
Tmich 14188	952 ^B	2044
Tmich 14189 ^T	813 ^B	1869
Tmich 14190 ^T	1705 ^{A B}	1837
Tmich 16156 ^T	2054 ^A	1422
Tmich 16157	829 ^B	2258

Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente, $\alpha=0,05$

Os genótipos novos, 14188 e 16157, com produtividade de MS de 952 kg/ha e 829 kg/ha, superaram a testemunha 14189, apesar de não serem estatisticamente superiores. As testemunhas 14190 e 16156 conduziram as produtividades mais altas dentro dos genótipos de *T. michelianum*, com produções de MS de 1705 kg/ha e 2054 kg/ha, respetivamente, mas apenas o genótipo 16156 se mostrou significativamente superiores aos restantes. Estas produções são consideravelmente inferiores às obtidas por outros autores, que foram superiores a 10t/ha na Austrália (Dear *et al.*, 2007) e 4,5 t/ha em Portugal (Perdigão *et al.*, 2011).

4.2.5. *Trifolium resupinatum*

No quadro 17 constam as produções médias de MS, em kg/ha, dos trevos e infestantes, estimadas a partir dos cortes feitos aos talhões que continham plantas dos genótipos de *T. resupinatum*.

Quadro 17 - Produção média de matéria seca (kg/ha) dos genótipos de *T. resupinatum* e das infestantes nos respectivos talhões

Genótipo	Produções de MS (kg/ha)	
	Trevos	Infestantes
Tres 14185	854	1992
Tres 14186	500	2376
Tres 15217	963	1979
Tres 90046 ^T	1466	1304
Tres 90047 ^T	1487	1441

Nenhum dos genótipos de *T. resupinatum* originou uma produtividade de MS significativamente superior aos restantes. Ainda assim, os genótipos testemunha, 90046 e 90047, alcançaram produtividades mais elevadas e níveis de infestação inferiores. Dos novos genótipos, o que obteve o melhor desempenho foi o 15217 com uma produção de MS de 963 kg/ha. Todas as produtividades obtidas ficaram substancialmente abaixo das documentadas por outros autores, cerca de 9 t/ha na Turquia (Ate e Servet, 2004) e entre 2,8 t/ha e 4,1 t/ha no Brasil (Gomes e Reis, 1999).

De todos os genótipos testados no ensaio, o 90046, foi o que obteve a menor massa de infestantes nos talhões, o que evidencia boa capacidade competitiva.

4.2.6. *Trifolium vesiculosum*

No quadro 18 apresentam-se as produções médias de MS, em kg/ha, dos trevos e infestantes, estimadas a partir dos cortes feitos aos talhões que continham plantas dos genótipos de *T. vesiculosum*.

Quadro 18 - Produção média de matéria seca (kg/ha) dos genótipos de *T. vesiculosum* e das infestantes nos respetivos talhões

Genótipo	Produções de MS (kg/ha)	
	Trevos	Infestantes
Tves 11180 ^T	1258 ^B	2482
Tves 16154	2871 ^A	1903

Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente, $\alpha=0,05$

O genótipo candidato ao CVN, 16154, superou com significância estatística, a testemunha 11180, originando mais do dobro da produção média de MS, 2871 kg/ha. É de realçar que nos dois talhões mais produtivos os cortes geraram produções de 3640 kg/ha e 4080 kg/ha de MS. Estes valores estão, no entanto, dentro da gama reportada por outros autores. Em Portugal 4,5 t/ha (Perdigão *et al.*, 2011) e no Brasil entre 1,9 t/ha e 4,6 t/ha (Gomes e Reis, 1999), ficando apenas abaixo das 7 t/ha citadas por Thompson (2005) na Austrália.

Tendo em conta as condições climáticas adversas ocorridas no decurso do ensaio, o genótipo 16154 mostrou-se bastante promissor em termos de produção de MS, corroborando a tolerância à escassez hídrica reportada por Thompson (2005).

4.3. Composição química

4.3.1. *Trifolium alexandrinum*

No quadro 19 constam os parâmetros de composição química, determinados nas plantas dos genótipos de *T. alexandrinum*.

Quadro 19 - Teores de PB, ADF, NDF, ADL, cinza e digestibilidade da MS nos genótipos de *T. alexandrinum* (valores em % MS)

Genótipo	PB	ADF	NDF	ADL	Digestibilidade MS	Cinza
Talex 14183	15,7 ^B	19,1	32,1 ^B	4,2	76,6 ^A	9,5 ^A
Talex 16118	17,4 ^A	19,1	30,5 ^B	4,2	77,3 ^A	10,2 ^A
Talex 16119	16,3 ^{AB}	21,6	36,5 ^A	5,3	68,8 ^B	7,9 ^B
Talex 86060 ^T	15,3 ^B	20,1	32,3 ^B	4,3	75,8 ^A	9,3 ^A

Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente, $\alpha=0,05$

O genótipo 16118 distinguiu-se dos restantes, com um valor de PB de 17,4%, significativamente superior aos restantes.

O genótipo 16119 apresentou o valor de NDF mais elevado, e a digestibilidade da MS mais baixa, ambos os parâmetros significativamente diferentes dos restantes genótipos. Isto vai traduzir-se num menor consumo destas plantas pelos animais e em menos energia metabolizável (Saha *et al.*, 2017), pelo que este genótipo aparenta ser o mais desfavorável em termos de qualidade nutricional.

Os teores de ADF não diferiram de forma significativa entre os genótipos de *T. alexandrinum* testados, sendo bastante inferior aos 34,3%, à plena floração, reportado por Tisserand e Alibés (1990).

Quanto aos teores de ADL não apresentaram diferenças significativas e os valores obtidos foram próximos dos determinados por Salama (2015), que reportou um valor de 4,1%.

O genótipo 16118 apresentou claramente a melhor qualidade nutricional, dentro dos genótipos de *T. alexandrinum*, além do teor máximo de proteína, tem o NDF mais baixo, a melhor digestibilidade e é o mais rico em elementos minerais. Tisserand e Alibés (1990) reportaram, à plena floração, teores de proteína bruta de 19,4% ligeiramente superiores aos obtidos, assim como um teor de NDF mais elevado, 42,8%, e pior digestibilidade da MS, 69,1%.

4.3.2. *Trifolium glanduliferum* e *Trifolium glomeratum*

No quadro 20 são apresentadas os parâmetros de composição química, determinados nas plantas dos genótipos de *T. glanduliferum* e *T. glomeratum*.

Quadro 20 - Teores de PB, ADF, NDF, ADL, cinza e digestibilidade da MS nos genótipos de *T. glanduliferum* e *T. glomeratum* (valores em % MS)

Genótipo	PB	ADF	NDF	ADL	Digestibilidade MS	Cinza
Tg1an 16155	13,6	27,7	39,0 ^A	5,9	71,5	7,9
Tglom	15,2	24,8	33,1 ^B	4,3	71,8	8,4

Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente, $\alpha=0,05$

As duas espécies de trevos manifestaram características nutricionais semelhantes, com teores de PB, ADF, cinza e digestibilidade da MS sem diferenças significativas. O *T. glomeratum* mostrou resultados mais vantajosos, embora sem significância estatística, com exceção para o valor de NDF que foi significativamente mais baixo. Apesar disso, a digestibilidade da MS não foi afetada de forma significativa, apresentando um valor muito semelhante nas duas espécies, cerca de 71%.

Nos teores de ADL não foram determinadas diferenças significativas entre os valores obtidos para as duas espécies. Para *T. glomeratum*, Monteiro *et al.* reportaram valores de ADL de 4,7%, pelo que o valor de 4,3% obtido no ensaio se situou na mesma ordem de grandeza.

As digestibilidades da MS obtidas neste ensaio situam-se na mesma ordem de grandeza das reportadas por outros autores, 73,9% (Masters *et al.*, 2006) e 75% (Hackney *et al.*, 2007b) para *T. glanduliferum* e de 70% (Maxwell *et al.*, 2016) para *T. glomeratum*, sempre na fase de plena floração.

O teor de PB determinado em *T. glomeratum* mostrou-se superior aos 14,3% reportado por Maxwell *et al.* (2016). No caso do *T. glanduliferum* estão documentados valores de 16,6% (Masters *et al.*, 2006) e de 21% (Hackney *et al.*, 2007b), consideravelmente superiores ao valor obtido nas plantas do genótipo 16155.

4.3.3. *Trifolium hirtum*

No quadro 21 apresentam-se os parâmetros de composição química, determinados nas plantas dos genótipos de *T. hirtum*.

Quadro 21 - Teores de PB, ADF, NDF, NDL, cinza e digestibilidade da MS nos genótipos de *T. hirtum* (valores em % MS)

Genótipo	PB	ADF	NDF	ADL	Digestibilidade MS	Cinza
Thir 16139	13,7	28,3 ^B	41,7 ^B	4,1 ^B	64,5	8,5 ^B
Thir 16153	13,5	31,2 ^A	47,1 ^A	4,9 ^A	61,9	10,4 ^A

Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente, $\alpha=0,05$

Os genótipos de *T. hirtum* apresentaram as características nutricionais menos interessantes de todas as espécies em estudo. Os teores de PB determinados foram relativamente baixos, inferiores a 14%, não diferindo significativamente entre os dois

genótipos. Os resultados obtidos são ligeiramente mais baixos que os 15,9% de PB reportados por Ridley *et al.* (1986) na plena floração.

Os parâmetros onde os genótipos de *T. hirtum* se afastaram de forma mais expressiva das outras espécies foram o ADF, NDF e a digestibilidade da MS. Valores muito elevados de ADF e NDF principalmente no genótipo 16153 com 31,2%, 47,1% respectivamente e baixa digestibilidade, 61,9%. O teor de ADL foi também significativamente mais elevado neste genótipo. Apesar destes resultados, o genótipo apresentou um teor de cinza razoável e significativamente superior ao 16139.

Outros trabalhos também reportaram teores de fibra bastante elevados nesta espécie (Cannas e Pulina, 2007; Ridley *et al.*, 1986). Quando ao ADF embora os valores obtidos sejam bastante mais reduzidos que os 42,1% reportados por Ridley *et al.* (1986), foram os mais elevados de todos os genótipos estudados. Os resultados obtidos para o ADF e NDF podem ser explicados com base na morfologia desta espécie, que apresenta uma reduzida razão folhas/caule o que implica teores de fibra altos e, conseqüentemente, pior digestibilidade da MS.

4.3.4. *Trifolium michelianum*

No quadro 22 são apresentados os parâmetros de composição química, determinados nas plantas dos genótipos de *T. michelianum*.

Quadro 22 - Teores de PB, ADF, NDF, ADL, cinza e digestibilidade da MS nos genótipos de *T. michelianum* (valores em % MS)

Genótipo	PB	ADF	NDF	ADL	Digestibilidade MS	Cinza
Tmich 14188	15,4 ^{A B}	22,7 ^{A B}	33,2 ^{B C}	4,8	74,5 ^A	10,8 ^{A B}
Tmich 14189 ^T	13,8 ^B	27,6 ^A	37,3 ^A	5,9	68,7 ^C	9,7 ^c
Tmich 14190 ^T	14,8 ^B	24,3 ^{A B}	34,8 ^{A B}	5,4	72,7 ^{B C}	10,3 ^{B C}
Tmich 16156 ^T	17,1 ^A	23,8 ^{A B}	32,9 ^{B C}	5,3	75,7 ^{A B}	11,4 ^A
Tmich 16157	16,5 ^A	22,0 ^B	29,6 ^C	4,7	78,4 ^A	10,6 ^{B C}

Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente, $\alpha=0,05$

De uma forma geral todos os genótipos de *T. michelianum* apresentaram boas características nutricionais. Exceção para o genótipo testemunha 14189 que se mostrou menos interessante, com valores menos favoráveis em todos os parâmetros analisados.

Os novos genótipos parecem ser interessantes do ponto de vista nutricional, por vezes superando as testemunhas, em alguns parâmetros com significância estatística. O genótipo 16157, por exemplo, apresentou os teores mais baixos de fibras, 22% na ADF e 29,6% na NDF, e a melhor digestibilidade da MS, 78,4%, embora não significativamente diferentes dos genótipos 16156 e 14188, o que faz com que seja facilmente consumido e convertido em energia pelos animais.

Os teores de ADF obtidos foram todos superiores ao 17,5% reportado na bibliografia (Monteiro *et al.*, 2014), sendo o valor que mais se aproximou o determinado no genótipo candidato ao CNV, 16157, com um teor de 22%.

As análises efetuadas ao ADL não revelaram diferenças significativas entre os genótipos de *T. michelianum* em estudo, todos os valores obtidos são superiores aos 3,7% reportado por Monteiro *et al.* (2014).

Monteiro *et al.* (2014) citaram um teor de proteína de 14,2% e de NDF de 29,4%. Com exceção para o genótipo 14189 todos alcançaram um teor de PB superior ao reportado, quanto ao NDF os valores determinados são semelhantes ou ligeiramente superiores aos da bibliografia consultada. Aguiar e Rodrigues (2011) citaram digestibilidades entre 76% e 82% para esta espécie, valores da mesma magnitude dos obtidos neste estudo.

4.3.5. *Trifolium resupinatum*

No quadro 23 constam os parâmetros de composição química, determinados nas plantas dos genótipos de *T. resupinatum*.

Quadro 23 - Teores de PB, ADF, NDF, ADL, cinza e digestibilidade da MS nos genótipos de *T. resupinatum* (valores em % MS)

Genótipo	PB	ADF	NDF	ADL	Digestibilidade MS	Cinza
Tres 14185	18,2 ^A	19,7	26,5 ^B	3,6	83,7 ^A	12,5
Tres 14186	15,3 ^B	22,9	30,4 ^{A B}	4,9	74,6 ^C	10,7
Tres 15217	16,6 ^B	21,4	30,4 ^A	4,4	78,4 ^{B C}	11,2
Tres 90046 ^T	17,8 ^{A B}	21,9	29,1 ^{A B}	4,6	79,6 ^B	11,4
Tres 90047 ^T	18,7 ^A	18,9	27,2 ^{A B}	3,2	84,3 ^A	11,2

Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente, $\alpha=0,05$

De todos os genótipos testados os de *T. resupinatum* destacaram-se dos restantes na qualidade nutricional. Praticamente todos possuem bons teores de PB e elementos minerais, que em conjunto com os baixos teores de fibra e boa digestibilidade os tornam alimento de elevada qualidade. Este facto está de acordo com Muir (2017b) que reporta esta espécie como tendo alto valor nutritivo e Li *et al.* (1992) que referem elevado teor em proteína.

Os teores de ADF foram todos bastante mais reduzidos que os 27,6% reportados por Abreu *et al.* (2000) e não diferiram significativamente entre os seis genótipos de *T. resupinatum* testados. Quanto ao ADL os resultados obtidos foram análogos, não tendo sido determinadas diferenças significativas entre os genótipos em estudo e todos os valores são mais reduzidos que o reportado por Abreu *et al.* (2000), 5,5%.

O genótipo 14185 evidenciou as melhores características, dentro dos novos genótipos, mostrou o teor de NDF mais baixo, 26,5%, e o de cinza mais alto, 12,5%, este último o mais

elevado de todo o ensaio. No teor de PB e digestibilidade da MS não se mostrou significativamente inferior à melhor testemunha, o genótipo 90047.

Os teores de PB reportados por outros autores, para esta espécie, foram superiores aos obtidos neste estudo, 20,8% (Abreu *et al.*, 2000) e 22,4% (Tisserand e Alibés, 1990). Abreu *et al.* (2000) reportaram também um teor de NDF de 34%. As digestibilidades determinadas para todos os genótipos são superiores às observadas por Tisserand e Alibés (1990), que referiram valores na ordem dos 73%.

4.3.6. *Trifolium vesiculosum*

No quadro 24 são apresentados os parâmetros de composição química, determinados nas plantas dos genótipos de *T. vesiculosum*.

Quadro 24 - Teores de PB, ADF, NDF, ADL, cinza e digestibilidade da MS nos genótipos de *T. vesiculosum* (valores em % MS)

Genótipo	PB	ADF	NDF	ADL	Digestibilidade MS	Cinza
Tves 11180 ^T	15,2 ^A	20,4 ^B	29,1 ^B	4,4	79,9 ^A	8,8
Tves 16154	12,9 ^B	25,1 ^A	36,9 ^A	4,8	70,2 ^B	8,9

Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente, $\alpha=0,05$

O genótipo 16154 mostrou valores de PB, ADF, NDF e digestibilidade da MS menos favoráveis que a testemunha, sempre com significância estatística. O teor de PB do genótipo 16154 foi o mais baixo de todas as espécies em estudo, 12,9%.

Os teores de PB dos dois genótipos foram substancialmente inferiores aos reportados noutros ensaios, Ovalle *et al.* (2010) referenciam teores de PB de 22,3% no início da floração. Durante o estado vegetativo, Gomes e Reis (1999) obtiveram valores entre 15,3% e 26%, num ensaio com uma duração de três anos. Estes autores observaram ainda valores de NDF entre 38,8% e 33,6% no mesmo ensaio, valores na mesma ordem de grandeza dos determinados no genótipo 16154.

Quanto ao teor de ADF determinou-se um valor mais elevado no genótipo 16154, 25,1%, significativamente superior ao da testemunha e também mais elevado que os 22% reportados por Ovalle *et al.* (2010), o que a evidencia, mais uma vez, uma aptidão nutricional pouco interessante neste genótipo.

A digestibilidade da MS do genótipo candidato determinada no estudo, 70,2%, foi semelhante à reportada por Ayala *et al.* (2013), 70%, mas significativamente inferior à do genótipo testemunha.

Relativamente aos teores de ADL e cinza não foram determinadas diferenças significativas entre os dois genótipos de *T. vesiculosum*.

5. Conclusões

A análise dos resultados relativos aos índices fenológicos, morfológicos e agronômicos, à produtividade da MS e à composição química dos genótipos de trevos anuais em estudo sugeriu as seguintes conclusões principais.

Os genótipos candidatos ao CNV de *T. alexandrinum* mostraram-se promissores com rápidos estabelecimentos iniciais, o que demonstra que é uma espécie com bom crescimento no período de outono-inverno. Apesar disto, estes genótipos apresentaram os sintomas mais pronunciados de cloroses provocadas por frio e geadas, facto que sugere que são mais adequados para climas com Invernos amenos.

Esta espécie conduziu também a bons resultados de composição química, a quase totalidade dos genótipos mostrou possuir boa qualidade nutricional. Apenas as produções de MS ficaram muito abaixo do esperado, mas como isto se verificou também na testemunha, pode ser explicado pelo ano de seca que prejudicou esta espécie particularmente dependente de uma boa disponibilidade hídrica. O corte de limpeza pode ter também prejudicado o crescimento, uma vez que na bibliografia é referida como uma espécie que não reage bem a cortes baixos. É importante a realização de novos ensaios de forma a verificar o comportamento destes genótipos com condições climáticas mais auspiciosas ao seu desenvolvimento.

Considerando globalmente as características estudadas, o genótipo 16118 mostrou ser o mais interessante dentro dos *T. alexandrinum*, originando as melhores características nutricionais e uma produção de MS próxima da testemunha.

Os genótipos de *T. glanduliferum* e *T. glomeratum* originaram das produções de MS mais baixas, de entre os genótipos em estudo. Esta característica não é necessariamente uma desvantagem no caso de se pretender incluir estas espécies em misturas para enrelvamentos, onde se pretendem plantas mais prostradas e sem crescimentos exuberantes de forma a manterem o solo revestido e não competirem com a cultura. Manifestaram ciclos vegetativos curtos, outra potencial vantagem em clima mediterrâneo, uma vez que chegando a estação seca as plantas já estão numa fase de senescência não competindo por água. É necessário uma avaliação futura à produção de semente e padrões de dureza de forma a examinar a capacidade de persistência destes genótipos.

De referir que as duas espécies se mostraram muito resistentes às agressões provocadas pelo frio e geadas não evidenciando quaisquer sintomas ao nível foliar.

O genótipo 16139 de *T. hirtum* conduziu à melhor produtividade do ensaio, mas por outro lado apresentou as características nutricionais menos favoráveis dentro dos genótipos em estudo. Estes resultados parecem sugerir que esta espécie será melhor aproveitada

como melhoradora de solos ou integrada em misturas biodiversas, como pioneira. Também será útil quando as condições climáticas exigirem uma espécie com elevada rusticidade, capaz de produzir uma quantidade apreciável de biomassa mesmo em anos desfavoráveis.

Os genótipos de *T. michelianum* exibiram dos ciclos vegetativos mais curtos entre as espécies em estudo, pelo que podem ter interesse como variedades precoces. As novas variedades não se mostraram particularmente pujantes em termos de desenvolvimento inicial e geraram produções de MS significativamente inferiores as testemunhas. No entanto, o genótipo 16157 apresentou boas características nutricionais, com um teor baixo de NDF e boa digestibilidade da MS.

Os genótipos de *T. resupinatum* mostraram resultados muito favoráveis em termos de qualidade nutricional. Bons teores de proteína, baixos níveis de NDF que potenciam a elevada digestibilidade da MS, tal como determinado analiticamente. Apresentaram também uma quantidade alta de elementos minerais. A exceção foi o genótipo 16186, nitidamente o menos promissor dentro dos genótipos desta espécie, com características nutricionais inferiores, pior estabelecimento inicial e uma produção de MS de apenas 500 kg/ha.

Os genótipos 14185 e 15217 de *T. resupinatum*, demonstraram bons resultados globais. O 15217 destacou-se em termos de crescimento e produção, evidenciou um estabelecimento inicial semelhante às testemunhas e a produção de MS não foi estatisticamente inferior. O 14185 sobressaiu na qualidade nutricional, onde foi determinado um teor de PB de 18,2%, níveis baixos de NDF, uma digestibilidade da MS superior a 83% e um teor de cinza de 12,5%.

Por fim o genótipo 16154, de *T. vesiculosum*, apresentou resultados muito promissores, exibiu melhor desenvolvimento inicial e originou mais do dobro da produção de MS que o genótipo testemunha. Com uma produção superior a 2,8 t/ha, originou a segunda melhor produtividade de MS do ensaio, apenas superado por um dos genótipos de *T. hirtum*. Nas análises da composição química, o genótipo 16154 não se mostrou tão favorável, tendo sido significativamente inferior à testemunha nos principais parâmetros avaliados, o teor de PB foi particularmente baixo, em média 12,9%. Assim, apesar do bom desenvolvimento e produção de biomassa, este genótipo não apresentou um valor nutritivo muito promissor.

Este trabalho permitiu dar um contributo na identificação de novos genótipos com potencial para uso agropecuário, aproveitando a grande diversidade genética apresentada pelo género *Trifolium*. Tal facilitará a introdução de novas variedades com elevado valor agronómico e de utilização, de forma a dar resposta às necessidades de plantas produtivas e com elevado valor para alimentação animal como *T. alexandrinum* e *T. resupinatum*.

São também importantes espécies com produções de biomassa modestas para uso em enrelvamentos e revestimentos. Os resultados obtidos com os genótipos de *T.*

glanduliferum e *T. glomeratum* parecem incluí-los neste requisito. É necessária a realização de estudos futuros que permitam comprovar a rusticidade, persistência e capacidade de ressementeira natural destas espécies.

É de realçar que o clima registado no ano agrícola de 2016-2017 foi atípico, mas perante a grande instabilidade interanual típica do clima mediterrâneo, agravada cada vez mais pelas alterações climáticas, no futuro pode vir a ser a norma. Assim, espécies como o *T. hirtum* e *T. vesiculosum*, que permitiram produções de MS apreciáveis mesmo com condições desfavoráveis, podem desempenhar um papel fundamental na manutenção e sustentabilidade dos sistemas agrícolas e pecuários no futuro.

6. Referências bibliográficas

Abreu, J. M., Bruno-Soares, A. M., Calouro, F., 2000. Intake and nutritive value of Mediterranean forages & diets: 20 years of experimental data. Lisboa: ISA Press.

Aguiar, C., Rodrigues, F.M., 2011. Trevo-balansa – Ficha Técnica N.º 1. SPPF Edts. 2 pp.

Ate, E., Servet, A., 2004. Effects of row distances and cutting dates on herb yield and some morphological characters of Persian clover (*Trifolium resupinatum* L.). *Cuban Journal of Agricultural Science*, **38** (3): 317–323.

Ayala, W., Barrios, E., Cardozo, G., 2013. *Trifolium vesiculosum*: exploring its potential in the Uruguay lowlands rice region. *Proceedings of the 22nd International Grasslands Congress*. 2 pp.

Bakheit, B. R., 1989. Pollination and seed setting in different genotypes of Egyptian clover (*Trifolium alexandrinum* L.). *Assiut Journal of Agricultural Sciences*, **20**: 199–207.

Bennett, S., Mathews, A., 2003. Assessment of genetic diversity in clover species from Sardinia, Italy, using AFLP analysis. *Plant Breeding*, **122**: 362–367.

Boucho, A. C., 2016. Contributo do fósforo para a eficiência simbiótica de leguminosas pratenses. Dissertação de mestrado. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa. 78 pp.

Burchill, W., James, E. K., Li, D., Lanigan, G. J., Williams, M., Iannetta, P. P. M., Humphreys, J., 2014. Comparisons of biological nitrogen fixation in association with white clover (*Trifolium repens* L.) under four fertiliser nitrogen inputs as measured using two ¹⁵N techniques. *Plant and Soil*, **385** (1–2): 287–302.

Buxton, D. R., 1996. Quality-related characteristics of forages as influenced by plant environment and agronomic factors. *Animal Feed Science and Technology*, **59** : 37–49.

Cannas, A., Pulina, G., 2007. Dairy goats feeding and nutrition (1ª). Bolonha: Cabi. 293 pp.

Carita, T., Simões, N., Carneiro, J. P., 2016. Inovação Agrária. Uso eficiente dos recursos genéticos vegetais. *Vida Rural*, Setembro: 29–31.

Carita, T., 2017. Melhoramento genético vegetal. Estratégia para uma agricultura de futuro. Confederação dos Agricultores de Portugal Edts.. *Revista do Agricultor*, 251: 34-35.

Carmona, M., Oliveira, M., Martins, J., Cabral, M., Passarinho, J., Fernandes, M., Neves, M., Vargues, A., Bica, J., Bica, M., Crespo, D., 2004. Avaliação da tolerância à salinidade de espécies forrageiras. *Pastagens e Forragens*, **24–25**: 85–96.

Carranca, C., Eskew, D., Silva, A., Ferreira, E., Sousa, M., Gusmao, M., Fernandes, M., Sequeira, E. M., 1996. Field symbiotic fixation using ^{15}N : II. *Vicia faba* L. and *Pisum sativum* L. *Progress in Nitrogen Cycling Studies*, 309–310.

Carranca, C., De Varennes, A., Rolston, D. E., 1999. Biological nitrogen fixation estimated by ^{15}N dilution, natural ^{15}N abundance, and N difference techniques in a subterranean clover-grass sward under Mediterranean conditions. *European Journal of Agronomy*, **10** (2): 81–89.

Carranca, C., Torres, M. O., Madeira, M., 2015a. Underestimated role of legume roots for soil N fertility. *Agronomy for Sustainable Development*, **35** (3): 1095–1102.

Carranca, C., Castro, I., Figueiredo, N., Redondo, R., Rodrigues, A., Saraiva, I., Maricato, R., Madeira, M., 2015b. Influence of tree canopy on N_2 fixation by pasture legumes and soil rhizobial abundance in Mediterranean oak woodlands. *Science of the Total Environment*, 506–507: 86–94.

Crespo, D., 2010. Qual o papel das pastagens e forragens no desenvolvimento da agricultura. *Trifolia (Newsletter SPPF)*, 4.

Cordeiro de Sá, A. 2017. Semente nacional certificada é o caminho para valorizar a agricultura portuguesa. <http://agriculturaemar.com/semente-nacional-certificada-caminho-valorizar-agricultura-portuguesa/>, acedido em 16/10/2017

Cosentino, S. L., Gresta, F., Testa, G., 2014. Forage chain arrangement for sustainable livestock systems in a Mediterranean area. *Grass and Forage Science*, **69** (4): 625–634.

Dear, B., Hackney, B., Crocker, G., 2007. Balansa clover. *NSW Primefacts*, **385**: 5.

Dear, S., Sandral, A., Peoples, B., Wilson, D., Taylor, N., Rodham, A., 2003. Growth, seed set and nitrogen fixation of 28 annual legume species on 3 Vertisol soils in southern New South Wales. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, **43**: 1101–1115.

Efe Serrano, J., 2006. *Pastagens do Alentejo* (1ª). Évora: Universidade de Évora - ICAM. 220 pp.

Égner, H., Riehm, H., Domingo, W., 1960. Untersuchungen über die chemische Bodenanalysen als Grundlage für die Beurteilung des Nährstoffzustandes der Böden. II. Chemische Extraktionmethoden zur Phosphor- und Kaliumbestimmung. *Kungliga Lantbrukshögskolans Annaler*, **26**: 199–215.

Feio, M., 1991. *Clima e Agricultura*. Lisboa: Direcção-Geral de Planeamento e Agricultura. 266 pp.

- Gomes, J. F., Reis, J. C. L., 1999. Produção de forrageiras anuais de estação fria no litoral sul do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **28** (4): 668–674.
- Gonçalves, F. M., 2015. Estudo comparativo de leguminosas pratenses anuais. Dissertação de mestrado. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa. 54 pp.
- Guerrero, A., 1992. *Cultivos Herbaceos Extensivos* (5^a). Madrid: Mundi-Prensa.
- Hackney, B., Dear, B., Crocker, G., 2007a. Berseem clover. *NSW Primefacts*, **388**: 3.
- Hackney, B., Dear, B., Sandral, G., 2007b. Gland clover. *NSW Primefacts*, **634**: 5.
- Hackney, B., Dear, B., Crocker, G., 2007c. Naturalised pasture legumes, August: 1–7.
- ICARDA, 2006. Legume International Nurseries and Trials. International *Lathyrus* Adaptation Trial - *Lathyrus sativus*. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas. Syria.
- INE, 2015. Estatísticas Agrícolas 2015. Lisboa: Instituto Nacional de Estatística, I.P.
- Invasive Species Compendium. <http://www.cabi.org/isc/datasheet/26397>, acedido em 22/3/2017
- ISO 13906: 2008 - Animal feeding stuffs - Determination of acid detergent fibre (ADF) and acid detergent lignin (ADL) contents. 12 pp.
- ISO 16472: 2013 - Animal feeding stuffs - Determination of amylase-treated neutral detergent fibre content (aNDF). International Standardization Organization. 16p. (com ligeiras modificações).
- Jarrige, R., 1988. Alimentação dos bovinos, ovinos e caprinos. Publicações Europa-América. 460 pp.
- Jones, D., Hayward, M., 1975 The effect of pepsin pretreatment of herbage on the prediction of dry matter digestibility for solubility in fungal cellulose solution. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **26** (3): 711-718.
- Kottek, M., Grieser, J., Beck, C., Rudolf, B., Rubel, F., 2006. World map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorologische Zeitschrift*, **15** (3): 259–263.
- Leitão, N., 2002. O Fogo na Paisagem Mediterrânea, <http://natura-link.pt/article.aspx?menuid=3&cid=93468&bl=1&viewall=true>, acedido em 26/2/2017

- Li, X., Kellaway, R. C., Ison, R. L., Annison, G., 1992. Chemical composition and nutritive value of mature annual legumes for sheep. *Animal Feed Science and Technology*, **37** (3–4): 221–231.
- Loi, A., Nutt, B. J., Revell, C. K., 2008. Domestication of new annual pasture legumes for resilient Mediterranean farming systems. In *Options Méditerranéennes, Series A*, pp. 363–371.
- Lourenço, M. E. V., Gonçalves, M. C., Oliveira, A. J., Serrano, J. E., 1994. Capacidade produtiva das pastagens naturais nas condições do montado alentejano. *Pastagens e Forragens*, **14–15**: 139–148.
- Masters, D. G., Mata, G., Revell, C. K., Davidson, R. H., Norman, H. C., Nutt, B. J., Solah, V., 2006. Effects of Prima gland clover (*Trifolium glanduliferum* Boiss cv. Prima) consumption on sheep production and meat quality. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, **46** (3): 291–297.
- Maxwell, T., Moir, J., Edwards, G., 2016. Grazing preference of Merino sheep for naturalized annual clover species relative to commonly sown clover species. *Grass and Forage Science*, **71** (2): 291–304.
- Menezes de Sequeira, E., 1997. As Pastagens, a nova PAC e o ambiente no Alentejo. *Pastagens e Forragens*, **18**: 49–74.
- Monteiro, A., Ribeiro, S., Vasconcelos, T., Costa, J. C., Simões, M. F., Falcão, L., Martins, C., Freire, J. B., 2014. *Plantas Forrageiras de Pastagens de Altitude*. Lisboa: ISA Press.
- Mueller, S. C., Orloff, S. B., 1994. Environmental factors affecting forage quality. California Alfalfa Symposium, **24**: 56–62.
- Muhammad, D., Misri, B., Khan, S., Serkan, A., 2014. Egyptian Clover (*Trifolium alexandrinum*). Cairo: FAO.
- Muir, P., 2017a. Gland clover. NZ Forage Systems. 2 pp.
- Muir, P., 2017b. Selecting “ New ” Annual Clovers. NZ Forage Systems. 2 pp.
- Muñoz, N., Liu, A., Kan, L., Li, M. W., Lam, H. M., 2017. Potential uses of wild germplasms of grain legumes for crop improvement. *International Journal of Molecular Sciences*, **18**: 328–356.
- Muslera, E., Ratera, C., 1991. *Praderas y Forrajes: produccion y aprovechamiento* (2ª). Madrid: Mundi-Prensa. 702 pp.

Nair, R. M., Peck, D. M., Rowe, T. D., Dundas, I. S., Dowling, K., 2007. Breeding system in *Trifolium glanduliferum* (Fabaceae). *New Zealand Journal of Agricultural Research*, **50** (4): 451–456.

Norma portuguesa NP 875 (1994) - Alimentos para animais: Determinação do teor de humidade. Lisboa, IPQ 5 pp.

Norma Portuguesa NP EN ISO 5983-1: 2007 - Animal feeding stuffs; Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content; Part 1: Kjeldahl method. 15 pp.

Norma portuguesa NP ISO 5984: 2014 - Animal feeding stuffs. Determination of crude ash. International Standardization Organization. 9 pp. (com ligeiras modificações).

Ovalle, C., del Pozo, A., Fernández, F., Chavarría, J., Arredondo, S., 2010. Arrowleaf clover (*Trifolium vesiculosum* Savi): A new species of annual legumes for high rainfall areas of the Mediterranean climate zone of Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research*, **70** (1): 170–177.

Perdigão, A., Coutinho, J., Moreira, N., 2011. Potencialidade das leguminosas forrageiras anuais como fonte de azoto em agricultura biológica. *Revista de Ciências Agrárias*, **34** (2): 141–153.

Pollination. <https://en.wikipedia.org/wiki/Pollination>, acedido em 22/3/2017

Ridley, P., Davies, H., Southey, I., 1986. The nutritive value of subterranean clover (*Trifolium subterraneum*), rose clover (*Trifolium hirtum*) and soft brome grass (*Bromus mollis*). *Australian Journal of Experimental Agriculture*, **26**: 665–668.

Riffkin, P. A., Evans, P., Wright, A., 2001. Extending pasture quality later into the season. Proceedings of the Australian Agronomy Conference, Australian Society of Agronomy. <http://www.regional.org.au/au/asa/2001/p/9/riffkin.htm>, acedido em 23/9/2017.

Sá, C., Rocha, A., Fernandes, D., Andrade, J., Coelho, T., Gomes, Z., 2017. *Catálogo Nacional de Variedades*. Lisboa: Direção-Geral de Alimentação e Veterinária. 71 pp.

Saha, U., Sonon, L., Hancock, D., Hill, N., Stewart, L., Heusner, G., Kissel, D., 2017. Common terms used in animal feeding and nutrition. UGA Cooperative Extension Bulletin, 1–20.

Salama, H., 2015. Interactive effect of forage mixing rates and organic fertilizers on the yield and nutritive value of berseem clover (*Trifolium alexandrinum* L.) and annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.). *Agricultural Sciences*, **6**: 415-425

Sears, P. D., 1953. Pasture growth and soil fertility. *New Zealand Journal of Science and Technology*, **35** : 1–67.

Simões, N., Carneiro, J. P., Carita, T., 2016. Vantagem da melhoria das pastagens para a intensificação da produção pecuária de ruminantes. *Vida Rural*, 32–34.

Simões, N., Navas, D., Carmona-Belo, C., Costa, R., Muacho, C., 2005. *Caracterização quantitativa e qualitativa de pastagens naturais em áreas de montado*. Poster apresentado na XXVI Reunião de Primavera da Sociedade Portuguesa de Pastagens e Forragens, 20 a 21 de Abril. Portalegre, Portugal.

Simões, N., Tavares de Sousa, M., Costa, A., Vicente, C., 2004. Estudo comparativo de leguminosas anuais pratenses - *Trifolium cherleri*; *Trifolium glomeratum*; *Trifolium hirtum*; *Trifolium lappaceum* e *Trifolium resupinatum*. *Pastagens e Forragens*, **24–25**: 109–120.

Sousa, M. E., Caixinhas, M. L., Forte, P., 2015. Trevos, Anafes e Luzernas de Portugal - estudo das formas juvenis, floração e frutificação. Lisboa: Verbo. 182 pp.

Suttie, J., 1999. *Trifolium resupinatum* L.,
<http://www.fao.org/ag/agp/AGPC/doc/Gbase/data/pf000415.htm>, acedido em 20/3/2017

Teixeira, R. F., Domingos, T., Costa, A. P., Oliveira, R., Farropas, L., Calouro, F., Barradas, A. M., Carneiro, J. P., 2011. Soil organic matter dynamics in Portuguese natural and sown rainfed grasslands. *Ecological Modelling*, **222** (4): 993–1001.

Tilley, J. M. A., Terry, R. A., 1963. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Grass and Forage Science*, **18** (2): 104–111.

Tisserand, J. L., Alibés, X., 1990. Tables of the nutritive value for ruminants of Mediterranean forages and by-products. *Options Méditerranéennes: Série B. Etudes et Recherches*, **4**: 137.

Thompson, R. B., 2005. Arrowleaf Clover. *NSW Primefacts*, **102**: 6.

Tuttobene, R., Gresta, F., Sortino, O., Frasca Polara, F., Dipasquale, M., Abbate, V., 2008. Characterization of native populations of *Trifolium* spp. In *Options Méditerranéennes, Series A*, pp. 395–398.

Walkley A., Black I. A., 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* **37**: 29–38.

Wassermann, V. D., Wicht, J. E., 1972. A preliminary evaluation of Rose clover (*Trifolium hirtum* All.) and Cupped clover (*Trifolium cherleri* L.) as pasture legumes in the cereal areas of the winter rainfall region. *Proceedings of the Grassland Society of Southern Africa*, **7**: 93–97.

Zohary, M., Heller, D., 1984. *The Genus Trifolium*. Jerusalem: Israel Academy of Sciences and Humanities. 606 pp.